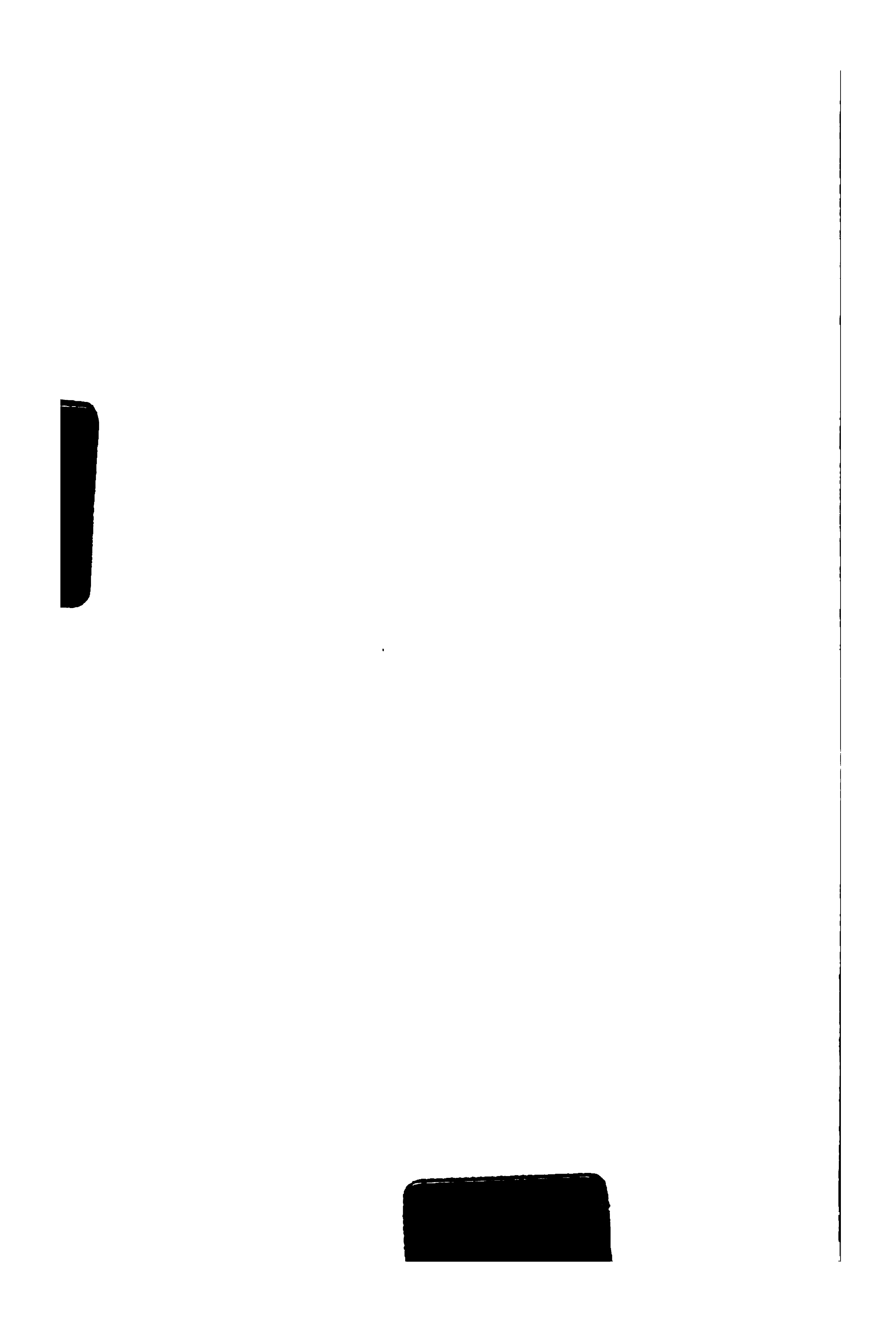


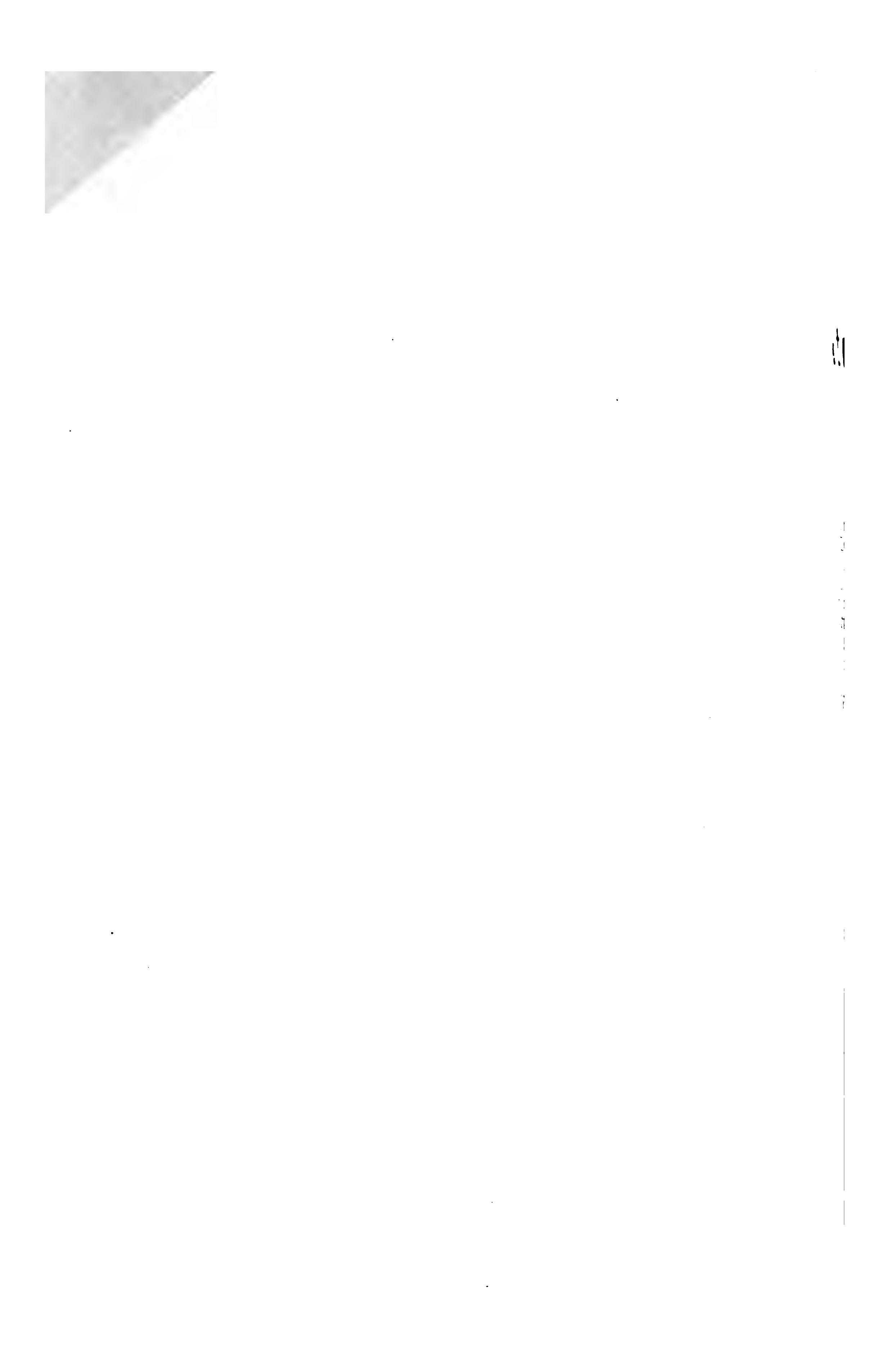


CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. XIV. Band.



5.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter,** Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Prof. Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin

und

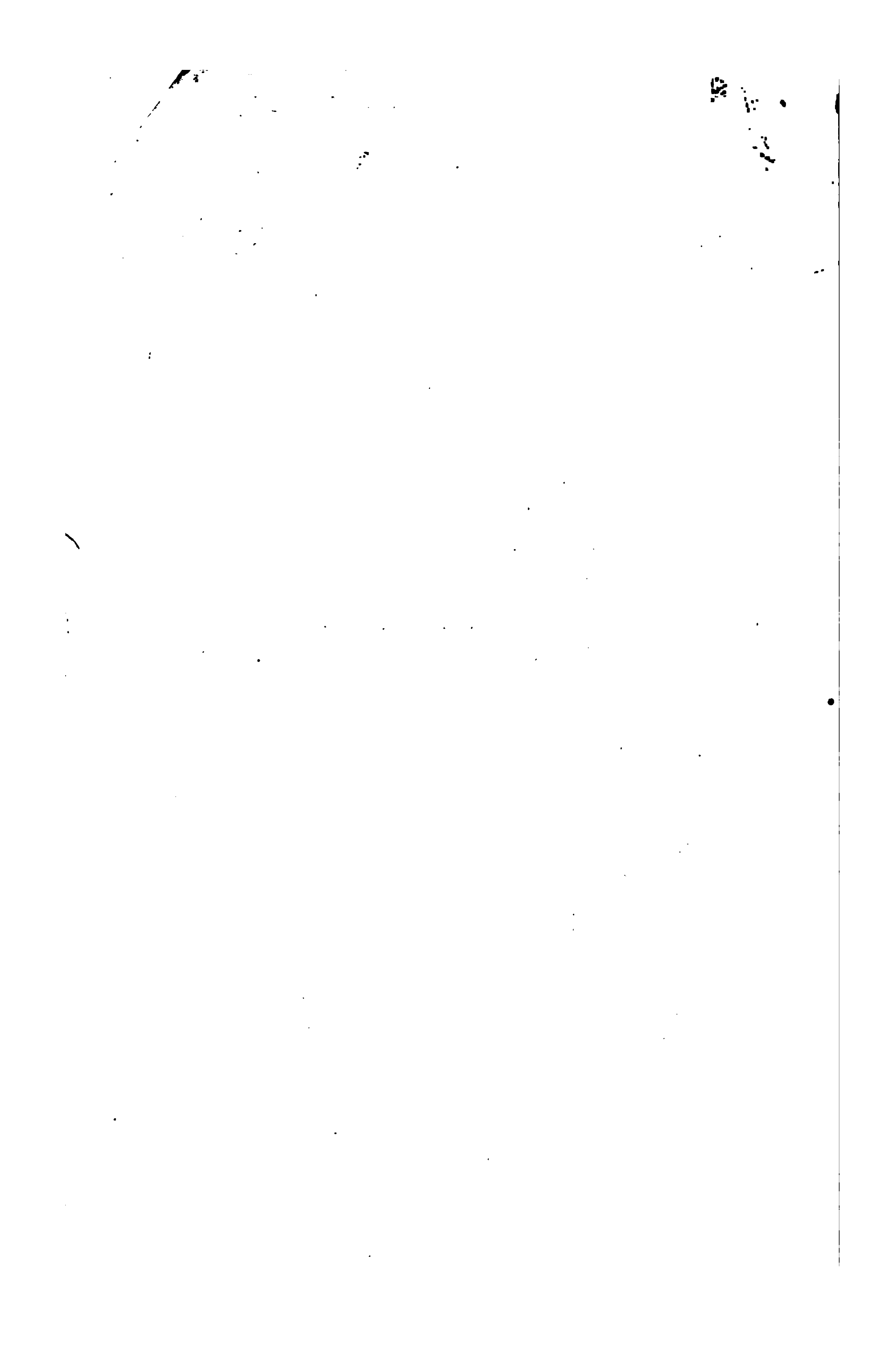
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Zweite Abteilung. XIV. Band.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

Mit 11 Tafeln und 32 Abbildungen im Texte.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1905.



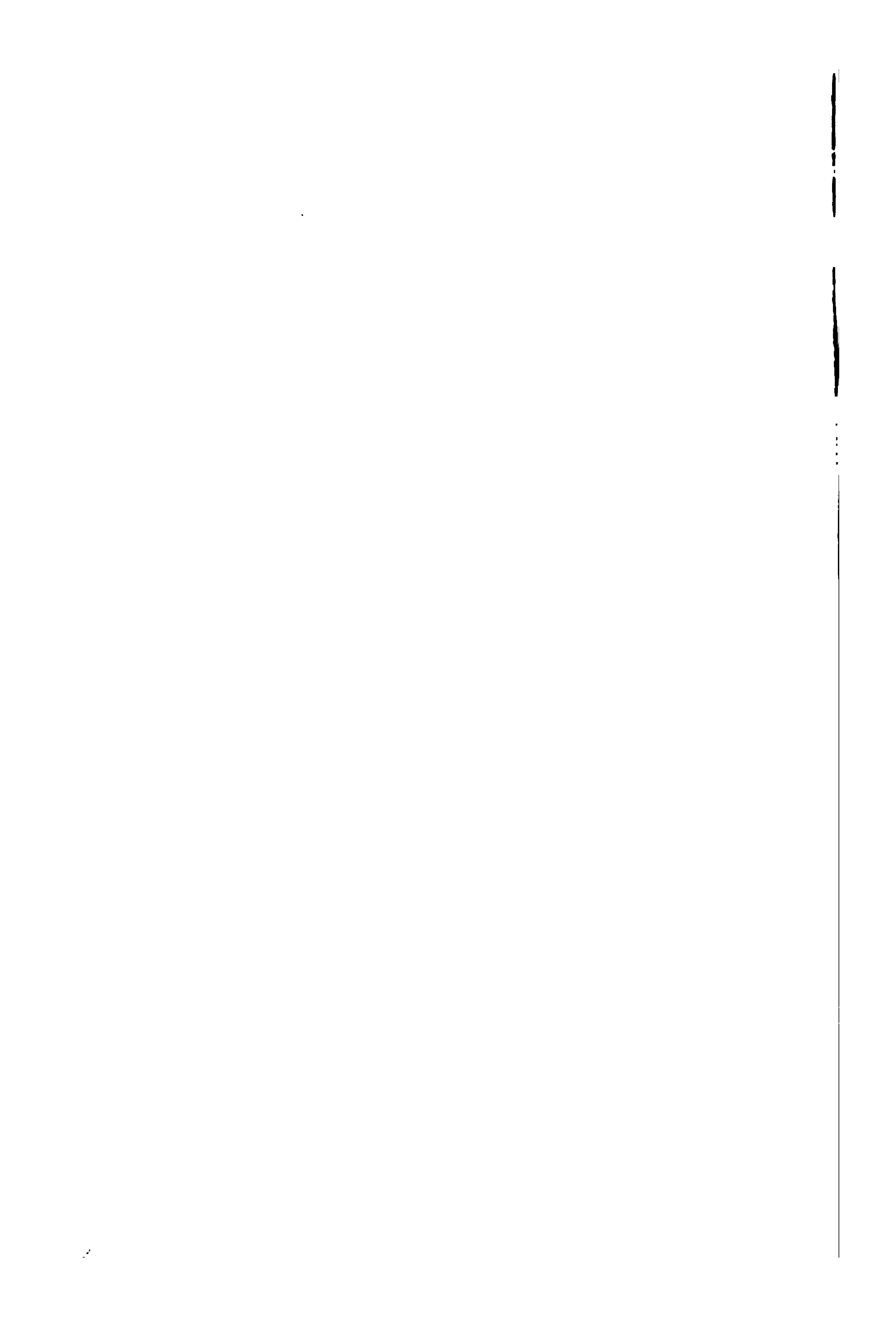
ZENTRALBLATT FÜR BAKTERIOLOGIE ... ABT. 2

VOLUME 14 Yr. 1905

Stubbed for No(s).

1

For Further Information, please inquire of the Reference Librarian



CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 50, Schaperstr. 2/3

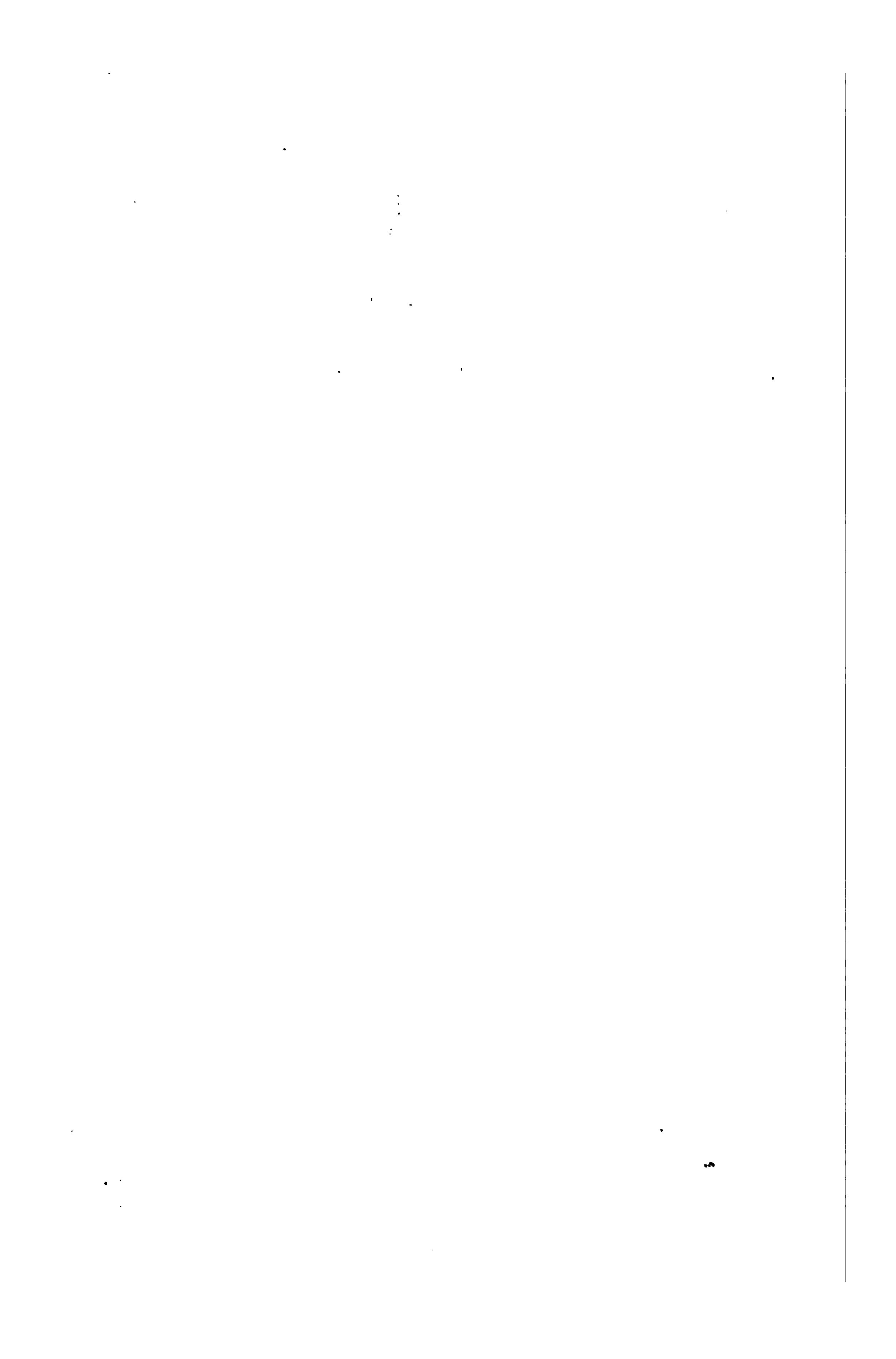
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XIV. Bd. Jena, den 1. Februar 1905. **No. 2.**

Inseratenannahme durch Max Gelsdorf, Leipzig-Gohlis. — Buchhändleranzeigen durch die Verlagshandlung erbeten.



Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 2.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Aus dem Institut für Bodenlehre nnd Pflanzenbau der landwirtschaftlichen Akademie Bonn-Poppelsdorf.

(Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Wohltmann.)

Ein Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von Stickstoff sammelnden Bakterien[1].

Von Privatdozent Dr. **Hugo Fischer**, Bonn.

Die Grundlage zu der nachfolgenden Untersuchung bot der von Wohltmann eingerichtete „spezifische Düngungsversuch", der in Kürze bereits in diesen Blättern (Bd. XII der II. Abt., p. 304/5) beschrieben wurde. Die ursprüngliche Absicht war, aus den verschieden gedüngten Beeten den Azotobacter Chroococcum Beijerinck zu züchten, um dann an den gewonnenen Reinkulturen festzustellen, ob sich vielleicht unter den verschiedenen Verhältnissen Rassen verschiedenen Virulenzgrades (hinsichtlich der Stickstoffassimilation) ausgebildet hätten. Es wurden aus 6 Beeten eines Streifens, der als Brache behandelt und anfangs September umgegraben worden war, am 11. Oktober 1904 Bodenproben unter sterilen Kautelen entnommen, und zwar aus:

I. Mit Stallmist gedüngt.
III. „ Aetzkalk gedüngt.
V. „ Doppelsuperphosphat gedüngt.
VII. „ Kalk, Magnesia, Phosphat und Kainit gedüngt.
XII. „ Chilisalpeter gedüngt.
XIII. „ Ammonsulfat gedüngt.

Die Böden wurden nach Beijerinck mit 1-proz. Mannitlösung überschichtet, und nachdem sie so 8 Tage gestanden, davon eine erste Reihe, nach weiteren 8 Tagen eine zweite Reihe von Kulturen angelegt; es wurden möglichst gleiche Mengen der die Mannitlösung überziehenden Decke verwendet, in gleicher Weise verdünnt und überhaupt darauf gesehen, daß alle 24 Kulturen (je 4 von einem Beet stammend) unter möglichst übereinstimmenden Bedingungen zu stande kamen und gehalten wurden. Als Nährboden diente Mannit-Agar nach Beijerincks Vorschrift.

Das Ergebnis war, daß in 8 der verwendeten 24 Petrischalen der Azotobakter aufging, und zwar in Hunderten von Kolonieen, während in den 16 übrigen auch nicht eine einzige (wohl aber solche von anderen Bakterien) zu finden war. Diese 8 Kulturen waren aber diejenigen, die von den gekalkten Beeten III und VII herstammten. Wenn auch nicht bewiesen scheint, daß die übrigen Streifen gar keinen Azotobakter enthielten, so muß er doch dort sehr viel seltener und

1) Erscheint ausführlicher im Journal für Landwirtschaft.

schwächer sein (Vergleich mit phanerogamischen Kalkpflanzen). Der Boden des Poppelsdorfer Versuchsfeldes ist schwerer, kalkarmer Lehmboden. Der geringe Kalkgehalt würde aber für die Ernährung wohl ausreichen, es muß hier noch eine andere Wirkung des Kalkes vorliegen. Diese kann in der nachweislichen Begünstigung anderer, besonders Fäulnisbakterien [1]), die dem Azotobakter assimilierbare Kohlenhydrate liefern, ihre Ursache haben, oder in der Förderung der Humusbildung [2]), oder in der Auflockerung des Bodens durch den Kalk, eine Veränderung, die dem luftliebenden Azotobakter nur förderlich sein ßann; schließlich ist wohl auch ein symbiotisches Verhältnis mit niederen Algen [3]) nicht von der Hand zu weisen, da solche ersichtlich auf den gekalkten Bodenstreifen üppiger gedeihen als auf denen, die keine Kalkdüngung erhielten.

Zwar ist auch Phosphor ein unentbehrliches Element [4]) für den Azotobakter, doch verhielt sich das mit Phosphat allein, ohne Kalk, gedüngte Beet ebenso negativ, wie die übrigen ungekalkten.

Trotz der sichtlichen Begünstigung, die ein so energischer Stickstoffsammler wie Azotobakter durch Kalkdüngung erfährt, haben die Analysen der 17 Streifen ergeben, daß an Gesamtstickstoff die gekalkten Böden durchweg ärmer sind als die ungekalkten. Der Kalk begünstigt eben auch die Stickstoffverluste, die teils durch Denitrifikation, teils durch Nitrifikation und nachfolgende Auswaschung der Nitrate bedingt werden.

Bakteriologisches Laboratorium der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten auf dem Liebefeld bei Bern.

Ueber die Wirkung verschiedener Milchsäurefermente auf die Käsereifung.

Von **Ed. v. Freudenreich,** Vorst. d. Laborat. u. **J. Thöni,** Assistent I. Kl.

Mit 1 Tafel.

In einer im vorigen Jahre veröffentlichten Arbeit [5]) aus diesem Laboratorium ist gezeigt worden, daß kleine, aus aseptisch gemolkener und daher sehr bakterienarmer Milch hergestellte Versuchskäse, die nach Emmentalerart bereitet werden, nicht reifen, daß dagegen die Reifung eine gute ist, wenn Mischkulturen verschiedener aus Käsen isolierter Milchsäurefermente zugesetzt werden. Dagegen zeigte es sich, daß verflüssigende Bacillen, wie z. B. der Adametzsche Bacillus nobilis auf die Reifung nicht günstig einwirken.

Da bisher nur mit Gemischen von Milchsäurefermenten gearbeitet worden war, wurden im Laufe des Jahres 1902 neue Versuche gemacht, um nun die herangezogenen Milchsäurefermente einzeln und in verschiedenen Kombinationen in ihrer Wirkung auf die Käsereifung zu

1) Vgl. das Referat im Centralbl. f. Bakteriologie. etc. II. Abt. Bd. XII. p. 306.
2) Vgl. B. Heinze, ebenda, Bd. XII. p. 61.
3) Vgl. Hugo Fischer, ebenda, p. 267.
4) Vgl. Gerlach und Vogel, ebenda, Bd. X. p. 638.
5) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1904. p. 531.

studieren. Gleichzeitig sollte auch versucht werden, die Rolle des in frischen Käsen so zahlreichen verflüssigenden Micrococcus, der, nach den früheren Versuchen zu schließen, nicht ohne Einfluß auf den Reifungsprozeß zu sein schien, näher zu präzisieren.

Da die Versuchskäserei der Versuchsanstalt erst im Herbst 1902 dem Betrieb übergeben werden konnte, wurden zunächst wiederum kleinere Käse aus aseptisch gemolkener Milch (14 l für einen Käse) hergestellt, unter Zusatz von Reinkulturen der früher erwähnten Milchsäurefermente, teils allein, teils miteinander gemischt. In jedem Falle wurde auch die Wirkung eines Zusatzes des verflüssigenden Micrococcus untersucht.

Später, noch im gleichen Jahre, wurde eine zweite Versuchsserie in ähnlicher Weise ausgeführt, dieses Mal aber, da die Versuchskäserei gebraucht werden konnte, mit größeren, aus ca. 80 l Vollmilch hergestellten Käsen. Da es nicht möglich gewesen wäre, wie man sich leicht vorstellen kann, eine solche Milchmenge aseptisch zu gewinnen, so begnügte man sich, sie möglichst reinlich melken zu lassen. Die Abendmilch wurde abgekühlt und mit der Morgenmilch verkäst. Als Lab brauchte man wie früher Hansensche Labtabletten, wogegen einige Kontrollkäse mit Naturlab hergestellt wurden. Diese Versuchsserie wurde im Jahre 1903 wiederholt.

Die kleinen Käse erhielten gewöhnlich einen Zusatz von im ganzen 30 ccm Peptonschottenkulturen der Milchsäurefermente. In den Fällen, in welchen noch der verflüssigende Micrococcus zur Verwendung kam, betrug der Zusatz desselben (Bouillonkultur) 5 ccm. Für die größeren Käse brauchte man gewöhnlich 200 ccm Milchsäureferment-kulturen und 25—50 ccm einer Kultur des verflüssigenden Coccus.

Die verwendeten Milchsäurefermente waren ein Bacterium lactis acidi, sowie die in früheren Arbeiten bereits erwähnten Bacillen α, γ, δ und ε, die künftig als Bacillus casei α, γ u. s. w. bezeichnet werden sollen. Alle waren aus Emmentalerkäsen isoliert worden. Von Bacillus casei ε wurden zwei Varietäten verwendet, die eine stammte aus Käse der Molkereischule Rütti (ε R), die andere aus einem Käse der Käserei Münchenbuchsee (ε M). Der verflüssigende Coccus war früher ebenfalls aus Käse isoliert worden und ist bereits in einer anderen Arbeit beschrieben worden [1]). Nach dem Vorgang von Dr. Orla Jensen wird er künftig als Micrococcus casei liquefaciens bezeichnet werden.

Die der im Landwirtschaftlichen Jahrbuch der Schweiz 1904 veröffentlichten diesbezüglichen Arbeit beigegebenen Tabellen enthalten nähere Angaben über das Verhalten dieser Bakterien in verschiedenen Nährböden, über ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber Wärme und Austrocknung, über ihre Säurebildung und über ihr Verhalten gegenüber verschiedenen Zuckerarten.

Bact. lactis acidi ist schon oft beschrieben worden. Bezüglich der übrigen Bacillen mag hier bloß gesagt werden, daß sie alle am besten unter anaëroben Bedingungen sich entwickeln, obwohl sie nicht zu den streng Anaëroben gerechnet werden können. So gedeihen sie in Stichkulturen, in Zuckeragar, am besten im Stiche, während auf der Oberfläche kaum merkbares Wachstum zu verzeichnen ist. Auf Milch-

1) Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Bakterien und ihre Beziehungen zu dem Käsereifungsprozeß. (Diese Zeitschrift. 1903. p. 305.)

zuckergelatineplatten wachsen Bac. α und γ ziemlich gut, δ und ε sehr schlecht; in Stichkulturen wachsen auch letztere, wenn auch nicht üppig. In Milchzuckerbouillon und Milch wachsen sie alle gut, besonders bei nicht zu niedriger Temperatur. In Zuckerbouillon wächst Bac. α ziemlich charakteristisch; er bildet hier nämlich gegliederte, oft astförmig gekrümmte Fäden, die an den Enden häufig glänzende Polkörner zeigen. Ueber Form, Größe etc. geben die beigegebenen Photogramme Aufschluß. Sie sind alle unbeweglich, lassen sich mit den gebräuchlichen Anilinfarben leicht färben und sind auch der Gramschen Färbung zugänglich.

Was die Widerstandskraft dieser Mikroorganismen gegenüber der Wärme anlangt, so ertragen sie eine Temperatur von 60° 30 Minuten lang, Temperaturen von 65 und 70° dagegen töten sie mehr oder weniger rasch ab. Der Austroknung widerstehen Bac. α 135 Tage, Bac. γ 67 Tage, Bac. δ 34 Tage, Bac. ε 4—11 Tage, Bact. lactis acidi sogar 312 Tage.

Das nähere Studium dieser Bakterien in chemischer Beziehung hat Dr. Orla Jensen in seiner Arbeit „Untersuchungen über die flüchtigen Fettsäuren im Käse, nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente“ [1]) übernommen.

Ueber die Versuchskäse selber mag hier folgendes mitgeteilt werden:

Kleine Versuchskäse.

Jedesmal wurden zwei Käse aus der möglichst aseptisch gewonnenen Milch gleichzeitig hergestellt. Bezüglich des Melkens, der Fabrikation u. s. w. darf hier auf das in der früheren Arbeit Gesagte verwiesen werden. Die zur Verwendung kommende Milch wurde auch regelmäßig auf ihren Bakteriengehalt untersucht. Die folgende Tabelle gibt eine Uebersicht dieser Untersuchungen.

	Bakterien per Kubikcentimeter	Art der gefundenen Bakterien:
23. Mai 1902	240	1/2 verfl. Kokken, 1/2 nicht verfl. Kokken
26. „ 1902	160	1/4 „ „ 3/4 „ „ „
27. „ 1902	80	nur nicht verfl. Kokken
28. „ 1902	80	„ „ „ „
29. „ 1902		Platte durch Wärme verflüssigt
30. „ 1902	320	verfl. und nicht verfl. Kokken
2. Juni 1902	40	nicht verfl. Bakterien
3. „ 1902	100	„ „ Kokken
5. „ 1902	100	„ „ „
6. „ 1902	120	1/6 verfl. Kokken, 5/6 nicht verfl. Bakterien
9. „ 1902	40	nicht verfl. Kolonieen
10. „ 1902	100	„ „ Bakterien
12. „ 1902	260	„ „ Kolonieen
13. „ 1902	120	„ „ Kokken
16. „ 1902	0	
17. „ 1902	100	1/5 verfl. Kokken, der Rest nicht verfl. Kokken
19. „ 1902	120	1/8 „ „ „ „ „ „ „
20. „ 1902	140	nicht verfl. Kokken

Im Mittel hätte man demnach ca. 125 Bakterien per Kubikcentimeter gehabt. Wie früher wurden meist nur verflüssigende und nicht verflüssigende Kokken, sowie ein nicht verflüssigendes Bakterium gefunden. Daß in einem Versuche der eingesäte Tropfen (20 Tropfen unserer

1) Diese Zeitschrift. 1904. p. 161.

Pipetten = 1 ccm) sich als steril erwies, beruht wohl auf einem Zufall, ist aber leicht erklärlich, da die Anzahl Kolonieen auf der mit 1 Tropfen geimpften Platte stets eine geringe war (2—16).

Was die Käse selber anlangt, so wurden sie im Alter von 4—5 Monaten bakteriologisch und chemisch untersucht, nachdem sie vorher auf Geschmack, Reifung u. s. w. genau geprüft worden waren. An dieser Prüfung nahmen Teil die Herren Dr. O. Jensen, Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt, Keller, von der Firma Bürki & Keller in Bern, Lederrey, Verwalter der Versuchsanstalten und Prof. Dr. Schaffer, Kantonschemiker und Mitglied der Aufsichtskommission.

Wie früher beschränkte sich die chemische Analyse auf die Bestimmung des Stickstoffes der löslichen stickstoffhaltigen Stoffe (L. N.) und des Stickstoffes der Zersetzungsprodukte in Prozenten des Gesamtstickstoffes ausgedrückt (Z. N.) In den Tabellen, bezüglich deren auf die Originalarbeit verwiesen wird, ist auch in der letzten Kolonne der Zersetzungsstickstoff in Prozenten des löslichen Stickstoffes angegeben.

Für die bakteriologische Analyse wurden gewöhnliche Gelatineplatten verwendet und Milchzuckeragarstichkulturen angelegt, letztere um die eingeimpften Milchsäurefermente, die auf gewöhnlicher Nährgelatine meist nicht wachsen, wieder finden zu können. In der zweiten und dritten Versuchsserie wurden auch von jedem Käse anaërobe Burrische Schüttelkulturen in Peptonschottenagar angelegt. Gewöhnlich wuchsen nur dem Bacterium lactis acidi ähnliche Bakterien auf den Gelatineplatten.

Bezüglich dieser kleinen Versuchskäse ist nun vor allem zu bemerken, daß sie infolge der hohen Temperatur, die zeitweise in der als Käsekeller benutzten Räumlichkeit herrschte, stark austrockneten. Die Reifung blieb daher bei allen diesen Käsen etwas zurück, und sie gaben somit weniger hohe Zahlen für den Stickstoff der löslichen stickstoffhaltigen Stoffe und der Zersetzungsprodukte als die kleinen Versuchskäse, die im Vorjahre gemacht worden waren. Dennoch machte sich auch in dieser Versuchsreihe der Einfluß der Milchsäurefermente geltend, denn die mit gewissen Arten derselben geimpften Käse reiften deutlich, während wir ja aus den vorigen Versuchen wissen, daß solche Käse aus aseptischer Milch, wenn sie nicht mit Milchsäurefermenten geimpft werden, so zu sagen gar nicht reifen. Ferner sehen wir, daß je nach der eingeimpften Art ganz auffällige Unterschiede sich zeigen. So reiften die mit Bac. δ oder Bac. γ geimpften Käse sehr schlecht, während Bac. α und Bac. ε stets einen günstigen Einfluß ausübten. Dieses stimmt auch ganz mit den Resultaten überein, die Dr. Orla Jensen bei dem Studium der chemischen Veränderungen, welche diese Milchsäurefermente in der Milch hervorbringen, erhalten hat. Nach seinen in dieser Zeitschrift veröffentlichten Untersuchungen nämlich wird die Milch von den Bacillen δ und γ fast gar nicht zersetzt, wohl aber von den Bacillen α und ε. Fast die besten Resultate freilich erzielten wir mit einem aus gutem Käse isolierten Bact. lactis acidi, was wir nicht erwartet hatten, da nach den Untersuchungen Jensens diese Art von Milchsäurefermenten das Kaseïn nicht stark anzugreifen scheint. Auch bei den größeren Käsen konnte man die günstige Wirkung des Bact. lactis acidi konstatieren. Indessen ist nicht zu vergessen, daß im Käse die Bedingungen andere sind als in der sterilisierten Milch. Merkwürdig ist ferner, daß in den meisten der schlecht gereiften Käse

auch ein Bact. lactis acidi oft in ziemlicher Zahl sich vorfand, ohne daß derselbe eine günstige Wirkung ausgeübt hätte. Vielleicht dürfte es daher rühren, daß wir es in diesen Fällen nicht mit der gleichen Varietät zu tun hatten, denn möglicherweise gibt es eine ganze Anzahl solcher, die ohne Einfluß auf die Reifung sind. Auch bezüglich der Säurebildung scheinen diese spontan in den Käsen aus aseptischer Milch auftretenden, dem in den Versuchen verwendeten Bact. lactis acidi morphologisch sehr nahe verwandten Milchsäurefermente nicht so kräftig zu wirken. Ganz interessante Resultate lieferte Bac. γ. Die beiden ersten mit demselben geimpften Käse 5a und 5b blähten etwas, waren aber später deutlich gelocht. Bei Wiederholung des Versuches mit γ allein (No. 28) trat eine sehr starke Blähung ein. Käse 9 (γ und der verflüssigende Coccus), sowie Käse 21 und 22 (γ und ε) dagegen blähten nicht, zeigten aber eine deutliche Lochbildung. Als diese Versuche jedoch wiederholt wurden, indem nebst α und ε verschiedene Dosen von γ zugesetzt wurden (Käse 31—36), trat weder Blähung noch Lochbildung ein, ebensowenig wie bei den Käsen 15 und 16 (α und γ). Allein eingeimpft scheint er also Blähung verursachen zu können, was auch wohl damit zusammenhängt, daß er unter anaëroben Bedingungen in hohem Peptonschottenagar den Milchzucker zu vergären vermag.

In chemischer Hinsicht scheint nach Orla Jensens Untersuchungen Bac. δ dem Bac. γ ziemlich nahe zu stehen. Trotzdem scheint er in den kleinen Käsen keine Wirkung ausgeübt zu haben. Sein häufiges Vorkommen im Naturlab dürfte indessen dafür sprechen, daß er irgend eine Rolle spielt.

Was den Einfluß des verflüssigenden Micrococcus anlangt, so trat er hier nicht so deutlich hervor wie in den Versuchen vom letzten Jahre. Vielleicht sind zu geringe Dosen verwendet worden; da nämlich im vorigen Jahre die Dosis von 50 ccm die Käse bitter gemacht hatte, wurden diesmal bloß 5 ccm zugesetzt. Auch die erwähnte zu große Trockenheit dieser Käse mag dazu beigetragen haben. Immerhin scheint er in einzelnen Fällen die Reifung begünstigt zu haben, so bei Käse 11.

Größere Versuchskäse.

Bei diesen größeren Käsen machte sich, das soll gleich anfangs betont werden, der gleiche Uebelstand geltend, wie bei sehr kleinen Versuchskäsen, daß nämlich auch bei solchen Käsen Geschmack und Aroma nie so fein und spezifisch sind, wie bei den großen Emmentalerkäsen. Warum in großen Käsen die Reifung eine vollständigere ist als in kleinen Käsen, ist vorderhand schwer zu sagen. Auf Unterschiede der Temperatur in der inneren Masse der Käse läßt sich diese Erscheinung nicht zurückführen, denn aus Versuchen von O. Jensen ergibt sich, daß die Temperatur in den großen Käsen kaum $^1/_2{}^0$ mehr beträgt als in unseren aus ca. 80 l Milch hergestellten Versuchskäsen. Tatsache ist aber, daß in diesen kleineren Emmentalerkäsen nie so viel Zersetzungsprodukte gebildet werden, wie in den größeren, die meist ca. 15—18 Proz. Zersetzungsstickstoff enthalten. Auch die Lochbildung ist selten so schön, wie in den großen Käsen, und zwar zeigten sich diese Fehler nicht bloß in den mit Milchsäurefermenten geimpften, sondern in ganz gleichem Maße in den mit Naturlab hergestellten Käsen. Wenn daher auch diese Versuche es uns noch nicht gestatten, spezifische Geschmacks- und Aromabildungen mit aller Sicherheit auf die Gegenwart

der einen oder anderen Art von Milchsäurefermenten zurückzuführen, so bestätigen und erweitern sie doch die früheren Resultate in nicht unbedeutendem Maße.

Vor allem zeigte sich wiederum, daß Kontrollkäse, mit Kunstlab hergestellt, also ohne Bakterienzusatz, weniger gut reifen als die Naturlabkäse oder die geimpften Käse. Der Unterschied ist freilich bei den kleinen, aus aseptisch gemolkener Milch ohne Bakterienzusatz hergestellten Käsen noch markierter, denn diese reifen sozusagen nicht und haben fast gar keinen Käsegeschmack. In den größeren, aus gewöhnlicher Milch und mit Kunstlab hergestellten Versuchskäsen dagegen gelangen mit der Zeit auch immer verschiedene Milchsäurefermente zur Entwickelung und so kommt es, daß auch sie einen ziemlichen Grad der Reifung erreichen; doch zeigen die chemischen Analysen, daß sie in dieser Beziehung auf der untersten Stufe stehen. Der Unterschied im Geschmack tritt besonders im Anfangsstadium der Reifung hervor; während die geimpften und die Naturlabkäse nach einigen Wochen schon deutliche Reifung zeigen, sind die Kunstlabkäse noch sehr wenig gereift; mit der Zeit aber machen auch sie Fortschritte in der Reifung, und der Unterschied wird allmählich weniger ausgesprochen; man findet aber dann in diesem Zeitpunkte, wie bereits erwähnt, sehr zahlreiche Milchsäurefermente in denselben.

Bac. γ schien in diesen Versuchen wiederum ungünstig zu wirken, da er sehr oft Blähung verursachte. Nur in einem Käse, welchem er in geringer Menge zugesetzt worden war, war die Lochung sehr schön. Freilich hatten auch Käse, in welchen er nicht vorhanden war, gute Lochung, so daß kaum anzunehmen ist, daß ein meist so gefährlicher Mikroorganismus eine nützliche Rolle spielen könne, was auch die später zu erwähnenden Versuche mit ganz großen Käsen bestätigten. Ueberhaupt scheinen kleinere Käse, speziell was die Lochbildung anlangt, kein sehr geeignetes Objekt zu sein. Sie sind Infektionen zugänglicher als große Käse, und sobald Coli- und Aërogenes-Bacillen hineingelangen, wird die Lochbildung sehr unregelmäßig. Daher hatte man denn auch oft bei Einsaat der gleichen Bakterien bald eine schlechte, bald eine gute Lochbildung, ohne daß diese Unterschiede mit den eingeimpften Bakterien zusammenzuhängen schienen.

Im allgemeinen haben besonders Bac. ε und Bac. α die Reifung günstig beeinflußt. In allen Fällen, in welchen der Geschmack der Käse dem Emmentalergeschmack sich näherte, war der eine oder der andere dieser Mikroorganismen zugegen.

Die Menge der zugesetzten Kulturen von Milchsäurefermenten betrug, wie schon erwähnt, meist 200 ccm, später 300 ccm. In jedem Versuch wurde auch ein zweiter Käse mit dem verflüssigenden Coccus geimpft (50 ccm). In manchen Fällen scheint der letztere den Teig weicher gemacht zu haben, was die größere Menge von löslichem Stickstoff bestätigt, doch gesellte sich öfters ein leicht bitterer Geschmack dazu. In anderen Fällen dagegen war von dieser Wirkung nichts zu verspüren. Am meisten Zersetzungsprodukte enthielten diejenigen Käse, welche mit Milchsäurefermenten am reichlichsten geimpft werden.

Es schien indessen nötig, diese Versuche zu wiederholen, und zwar im Sommer, weil in dieser Jahreszeit mit Bezug auf Qualität und Quantität der Milch bessere Bedingungen vorlagen. Es ist ja eine bekannte Tatsache, daß Wintermilch sich zur Emmentalerkäsefabrikation weniger eignet als Sommermilch, und im Sommer konnten wir auch

fast das doppelte Quantum Milch zur Verfügung haben, nämlich ca. 130—150 l.

Diese Käse wurden im Laufe des Sommers 1903 in gleicher Weise wie die vorigen hergestellt, d. h. mit Kunstlab unter Zusatz von Kulturen der verschiedenen Milchsäurefermente, sowie des Micrococcus cas. liq. Wo letzterer in Anwendung kam, wurden stets 20—25 ccm Bouillonkultur gebraucht. Die übrigen Fermente wurden meist in der Dosis von 200 ccm Schottenkultur verwendet, zuweilen jedoch auch 500—1000 ccm. Wo mehr als ein Milchsäureferment eingeimpft wurde, wendeten wir Mischkulturen an, d. h. Schotten, die man gleichzeitig mit den verschiedenen Fermenten geimpft hatte. Von Bac. γ abstrahierte man dieses Mal ganz, da er Blähungen zu verursachen scheint, und brauchte nur Bact. lactis acidi, Bac. α, Bac. ε und Bac. δ. Aber auch die in dieser Versuchsserie zur Verwendung gekommene Milchmenge scheint nicht hinreichend gewesen zu sein, um einen richtigen Emmentalerkäse zu bekommen, und zwar war auch ein mit Naturlab hergestellter Kontrollkäse nicht besser als die anderen. Einzelne freilich der mit Milchsäurefermenten geimpften Käse näherten sich dem Emmentalerkäse, doch fehlte noch meist der süßliche Nußkerngeschmack, der diese Käseart auszeichnet.

Da also keine der mit der angegebenen Milchmenge hergestellten Versuchskäse, selbst die mit Naturlab hergestellten, als ganz echte Emmentaler bezeichnet werden können, so kann man leider noch nicht mit Bestimmtheit sagen, welche Rolle jedes der gebrauchten Milchsäurefermente bei der Reifung spielt, aber ebenso wie die früheren, zeigen auch diese Versuche, daß jedenfalls die Milchsäurefermente den Hauptfaktor der Reifung darstellen. Wiederum waren die bloß mit Kunstlab, ohne Zusatz von Milchsäurefermenten, hergestellten Käse besonders im Anfang in der Reifung zurückgeblieben, später glich sich das etwas aus, wohl weil, wie die bakteriologische Untersuchung zeigte, diese Käse sich mit Milchsäurefermenten spontan infizierten. Jedenfalls gehörten sie zu denjenigen Käsen, die am wenigsten Zersetzungsstickstoff hatten. Einige Käse ließ man 8 statt 4 Wochen im Heizkeller, um zu sehen, ob dadurch die Reifung weiter gebracht würde. Im allgemeinen schien dies keinen Einfluß ausgeübt zu haben.

Am besten waren in der Regel diejenigen Käse, in welchen am meisten Zersetzungsstoff nachgewiesen wurde. Ebenfalls scheint das Vorhandensein des M. casei liquefaciens in der angegebenen Dosis günstig zu wirken, obwohl er allein nicht so gut wirkt. Am meisten näherten sich dem wahren Emmentalerkäse diejenigen Käse, die auch Bac. ε enthielten, obwohl Bac. α auch gute Resultate gab.

Bact. lactis acidi scheint auch notwendig zu sein schon wegen der schützenden Rolle, die er spielt, da er sich schon bei niedriger Temperatur entwickelt. Interessant sind in dieser Hinsicht zwei Versuche, in welchen Bac. ε und Bac. δ eingeimpft worden waren, und in welchen die Käse faulig und bitter wurden. Der eine derselben wurde bakteriologisch untersucht und gab unter anderem den M. casei amari in sehr großer Menge. Die Bacillen ε und δ entwickeln sich nämlich langsam und nicht bei zu niedriger Temperatur; fehlt das B. lactis acidi im Käse, was unter anderem der Fall sein kann, wenn eine sehr frische Milch vorliegt und Kunstlab gebraucht wird, so ist der Käse gegen verflüssigende Fäulnisorganismen nicht hinreichend geschützt. In zwei anderen Käsen war Bac. ε auch allein geimpft worden;

dieses Mal war das Resultat nicht schlecht, vielleicht weil kein M. casei amari zugegen oder weil B. lactis acidi in genügender Menge hinzugekommen war.

Ein weiterer Versuch wurde mit dem von Weigmann[1]) beschriebenen Paraplectrum foetidum gemacht, indem zwei Käse, von denen der eine mit Naturlab, der andere mit Kunstlab hergestellt wurde, je eine Kultur dieser Bakterie zugesetzt erhielten (ca. 80 ccm). Der erstere, der also auch Milchsäurefermente enthielt, reifte normal, hatte jedoch einen leichten unangenehmen Beigeschmack. Da Paraplectrum foetidum sich im Käse jedenfalls nicht weiter entwickelt hatte — aus demselben ließ es sich am Ende der Reifung nur noch in geringer Menge isolieren — scheint uns wahrscheinlich, daß dieser Beigeschmack von dem bloßen Zusatz der Milchkultur herrührte, die mit einem entsetzlichen Gestank behaftet war. Der Kunstlabkäse reifte sehr schlecht, hatte auch am wenigsten Zersetzungsstickstoff, ein Beweis, daß Paraplectrum foetidum jedenfalls bei der Reifung der Emmentalerkäse keine Rolle spielt.

Ueberhaupt gelang es nie, obwohl jedesmal aus der auf 80° erwärmten Käseemulsion anaërobe Burrische Peptonschottenagar-Schüttelröhren angelegt wurden, streng obligate Anaëroben, wie Paraplectrum foetidum und die gewöhnlichen Buttersäurebacillen zu isolieren. Auch die Tyrothrix-Bacillen wurden nur ganz selten angetroffen. Gewöhnlich wurden nur die eingeimpften Milchsäurefermente wieder gefunden, zuweilen jedoch traten neben den eingeimpften die nicht eingeimpften auf; meist z. B. das B. lactis acidi und auch Bac. δ oder α. Mit der Zeit müssen diese Käsefermente in der Käserei überall zugegen sein, so daß es nicht immer gelingen wird, sie vollständig fernzuhalten.

Was die Oeffnung dieser Versuchskäse betrifft, so war sie meistens ungenügend und unregelmäßig, was aber jedenfalls der mangelnden Größe derselben zuzuschreiben ist. Inwiefern die Lochbildung von der einen oder anderen Bakterienart günstig beeinflußt wird, läßt sich daher vorläufig noch nicht entscheiden, zumal die Fälle, in welchen dieselbe besser war, zu wenig zahlreich sind, um bestimmte Schlüsse daraus ziehen zu können.

Bezüglich der näheren Details mag auf die Tabellen der Originalarbeit verwiesen werden.

Dank dem Entgegenkommen des Direktors der Molkereischule Rütti, Herrn A. Peter, war es ferner möglich, daselbst auch eine Reihe von großen Versuchskäsen mit Reinkulturen herstellen zu lassen. Es wurden zu diesem Zwecke 2-tägige Mischkulturen in Schotten von B. lactis acidi, Bac. α, Bac. ε und Bac. δ verwendet. Von Bac. γ machte man nur ausnahmsweise und in sehr vorsichtiger Weise Gebrauch, weil er, wie erwähnt, bei orientierenden Versuchen im Vorjahre eine ungünstige Wirkung ausgeübt hatte. Als Lab wurde Kunstlab gebraucht. Da ein gutes Naturlab eine wahre Kultur von Milchsäurefermenten darstellt, unter welchen man besonders B. lact. acidi, Bac. δ und Bac. ε findet, so war natürlich nicht zu erwarten, daß die Reinkulturkäse etwa besser werden sollten als die Naturlabkäse. Diese Versuche sollten bloß zeigen, daß man unter den Bedingungen, wie sie in der Praxis vorliegen, mit Kunstlab und Reinkulturen von Milchsäure-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. p. 827.

fermenten ebenso gute Käse machen kann als mit Naturlab. Folgende Tabelle zeigt dieses deutlich.

No. des Käses	Datum der Fabrikation	Bemerkungen	Säuregrad der Kultur resp. des Naturlabes[1])	Ausfall der Käse
406	11. August 1903	ca. 1 l Kultur	10,5°	Zu wenig offen
407	11. „ 1903	Naturlab	38°	Primaware
409	12. „ 1903	Naturlab	37,5°	„
410	12. „ 1903	1 l Kultur	18°	„
413	13. „ 1903	Naturlab	30°	„
412	13. „ 1903	1 l Kultur	19°	„
417	15. „ 1903	Naturlab	26°	„
418	15. „ 1903	1 l Kultur	13,5°	„
424	17. „ 1903	Naturlab	20°	„
423	17. „ 1903	1 l Kultur	11°	Primaware. Sehr groß gelocht, tadelloser Teig
427	19. „ 1903	Naturlab	21°	Primaware
428	19. „ 1903	ca. 2 l Kultur	16°	„
431	20. „ 1903	Naturlab	19°	Primaware, aber etwas wenig offen
432	20. „ 1903	$1^1/_2$ l Kultur	15°	Primaware
434	21. „ 1903	Naturlab	29°	„
433	21. „ 1903	$1^3/_4$ l Kultur	—	„
435	22. „ 1903	Naturlab	—	„
436	22. „ 1903	$2^1/_2$ l Kultur	19°	Gläsler
439	23. „ 1903	Naturlab	—	Primaware
438	23. „ 1903	4 l Kultur	—	Teig zu kurz
441	24. „ 1903	Naturlab	—	Primaware
440	24. „ 1903	4 l Kultur	—	Spalten
443	25. „ 1903	Naturlab	—	Gläsler, Spalten
444	26. „ 1903	2 l Reinkultur, dazu 60 ccm Kultur von Bac. γ vor dem Laben zugesetzt.	—	Primaware
445	27. „ 1903	2 l Reinkulturen, dazu Bac. γ	—	„

Der erste Kulturkäse war freilich zu wenig offen; dieses rührt wohl davon her, daß die verwendete Kultur noch nicht genügend entwickelt war, denn ihr Säuregrad betrug bloß 10,5°. Die folgenden Käse sind bis No. 436 alle Primaware, sowohl die Kulturkäse als die mit Naturlab hergestellten Käse. Käse 436 ist nun Gläsler; es ist indessen nach dem, was wir über die Ursachen dieses Käsefehlers wissen, nicht anzunehmen, daß die Kultur daran schuld gewesen sei. Zu große Mengen Kultur, nämlich 4 l, statt $1^1/_2$—2 l für Käse aus ca.. 8—900 l Milch scheinen dagegen nicht so günstig zu wirken, denn von den zwei so behandelten Käsen hatte der eine etwas kurzen Teig und der andere hatte Spalten. Da indessen auch Naturlabkäse, z. B. No. 443, eine ähnliche Erscheinung zeigten, so mag dieser Umstand auch vielleicht bloß ein Zufall sein und ist durch weitere Versuche die am günstigsten wirkende Dosis von Reinkulturen festzusetzen. Bac. γ scheint, in der in der Tabelle angegebenen Weise verwendet, keine nachteilige Folgen verursacht zu haben; auf die Lochbildung scheint er indessen auch ohne

1) In ccm $\frac{N}{4}$ Kalilauge ausgedrückt.

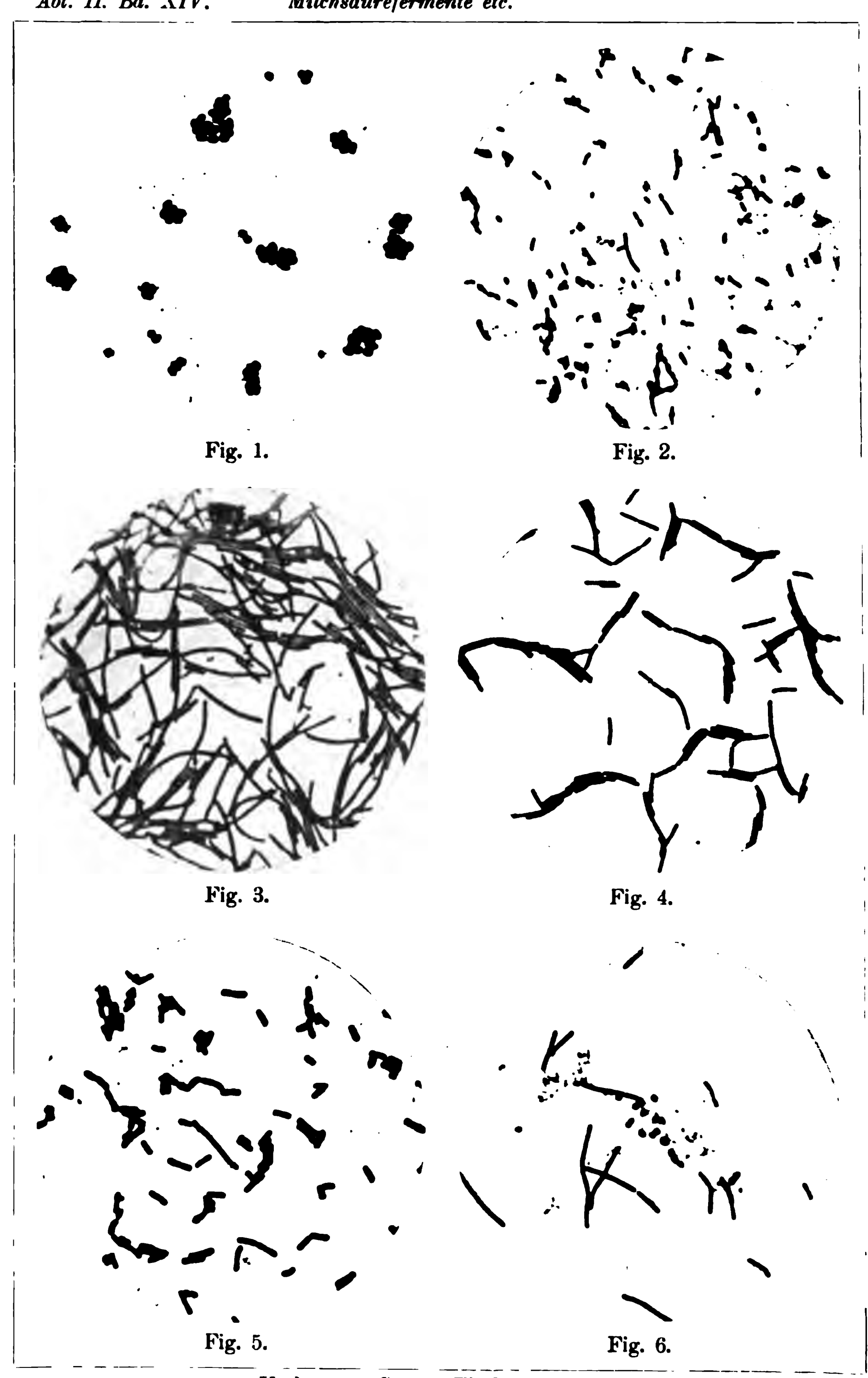


Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4. Fig. 5. Fig. 6.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Einfluß gewesen zu sein. Jedenfalls beweisen diese Versuche, daß Reinkulturen mit Kunstlab verwendet, auch in der Praxis ebenso gute Resultate geben werden als das Naturlab. Ein solches Verfahren würde nach unserer Ansicht große Vorteile bieten. Erstens ist die Bereitung des Naturlabes immer eine etwas gefährliche Sache. In einer späteren Arbeit wird nämlich der eine von uns zeigen, daß die Labmägen sehr oft Blähungserreger in bedeutenden Mengen enthalten, und es sind uns Fälle bekannt, in welchen das Blähen der Käse auf das Lab zurückzuführen war, und wir sind überzeugt, daß dieses viel öfters der Fall sein dürfte als angenommen wird. Bei Anwendung von Kunstlab wäre dieses nicht zu befürchten, da dasselbe viel bakterienärmer ist. Das einzige, was sich bis jetzt gegen die Anwendung von Kunstlab einwenden ließ, war, daß die Reifung weniger gut verläuft, wenn man es allein verwendet. Unsere Versuche zeigen aber, daß, wenn man demselben die nötigen Fermente zusetzt, die Reifung dann ganz normal verläuft, und dieses bedingt den zweiten Vorteil, daß man nunmehr in der Lage ist, diejenigen Bakterien zuzusetzen, welche die besten Resultate zu geben scheinen. In dieser Richtung sind freilich noch weitere Arbeiten nötig, wir zweifeln aber nicht, daß mit der Zeit die Anwendung von Reinkulturen in der Käserei ebenso erfolgreich sich gestalten wird wie bei der Butterfabrikation. Aber nur bei Versuchen im großen wird man in der Lage sein, die wirklich besten Varietäten der Milchsäurefermente heranzuzüchten und der Praxis zugänglich zu machen.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Bacterium lactis acidi (Peptonschottenagarkultur). Vergr. 1000:1.
Fig. 2. Bacillus casei α (Peptonschottenagarkultur). Vergr. 1000:1.
Fig. 3. Bacillus casei ε (Peptonschottenagarkultur). Vergr. 1000:1.
Fig. 4. Bacillus casei δ (Peptonschottenagarkultur). Vergr. 1000:1.
Fig. 5. Bacillus casei γ (Peptonschottenagarkultur). Vergr. 1000:1.
Fig. 6. Naturlabpräparat. In demselben sieht man B. lactis acidi, Bac. ε und Bac. δ. Vergr. 1000:1.

Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Kirchner, O., Bericht über die Tätigkeit der kgl. Anstalt für Pflanzenschutz in Hohenheim im Jahre 1903. p. 1—19.

In dem Berichte werden wichtigere und allgemein interessante Vorkommnisse mit Anfügung neuer Erfahrungen auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes besprochen. Es mögen hier nur die nennenswertesten Untersuchungsresultate erörtert werden.

Bezüglich des Rostbefalles zeigten sich die Winterfrüchte stärker rostig als die Sommerfrüchte. Unter den Winterweizen waren Treverson und Roter samtiger Kolben fast rostfrei, Criewener, Braunroter Leipziger, Squarehead, Dickkopf, Manitoba, Kaiser, Kollosal Hybrid, Schottischer, Kessingland, Dänischer, Deutscher Juli, Goldtropfen, Chili, Spaldings Prolific, Halletts genealogischer, Marygold und Wetterauer Fuchs schwach, dagegen Preis von Oxford, Banat, Walachischer und Böhmischer Weizen stark befallen. Von den Sommerweizen zeigten März und Englischer April keinen, Noë, Roter Schlanstädter und Hunderttägiger starken Rost. Aehnliche Unterschiede traten beim Dinkel und Emmer hervor: Schlegel-

dinkel, Weißer und Roter Sommerkolbendinkel waren fast ganz rostfrei, Blauer samtiger Grannendinkel in sehr hohem Grade rostig; Schwarzer samtiger ästiger Emmer so gut wie rostfrei, Roter und Weißer samtiger Emmer sehr schwach, Weißer Winteremmer sehr stark rostig. Von den vierzeiligen Gersten waren die Sommerfrüchte fast ganz rostfrei, die Winterfrüchte in mittlerem Grade rostig; unter den zweizeiligen Gersten waren Jerusalem, Bestehorns, Halletts Pedigree, Goldene Melonen, Saale, Schottische Perl und Trotha so gut wie rostfrei, Phönix mäßig stark befallen. Beim Roggen zeigte sich die Sommerfrucht etwas stärker erkrankt als die Winterfrucht; von letzterer war Böhmischer Staudenroggen am wenigsten, Schlaraffen-Riesen am stärksten rostig, unter den Sommerrogen Zborowo wenig, Uckermärker stark befallen.

In Riedbach bei Bartenstein wurde eine Milbenkrankheit des Hafers, verursacht durch Tarsonemus spirifex Marchal, beobachtet.

Fernere Untersuchungen ergaben, daß die als „Lederbeeren" bezeichnete Krankheit des Weinstockes von 2 verschiedenen Pilzen, nämlich von Plasmopara viticola und Botrytis cinerea verursacht werden kann. Durch Anwendung von Kupferbrühen ist die Botrytis-Krankheit nicht zu bekämpfen und kann vorläufig nur ein zeitiges Abgipfeln der Reben empfohlen werden.

Weitere Angaben beziehen sich auf die lokale Verbreitung, Art des Vorkommens und usuelle Bekämpfung bekannterer Krankheiten.

Pósch (Grinád).

Referate.

Grüss, J., Untersuchungen über die Atmung und Atmungsenzyme der Hefe. (Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. Jahrg. XXVII (N. F.). 1904. No. 39—44.)

Verf. bespricht zunächst die Bildung des Glykogens, des bei der Gärung der Hefe sich aufspeichernden Kohlehydrats, sowie seinen Verbrauch und eine mit Erfolg durchgeführte Methode zur quantitativen Bestimmung des Glykogens in der Hefe. Letztere wurde auf Grund des Jodabsorptionsvermögens des Glykogens durch Titration mittels Jodlösung durchgeführt. Aus den Untersuchungen über die Bildung des Glykogens glaubt Verf. schließen zu dürfen, daß das Hefeplasma so konstituiert sein kann, daß es unter gleichen Bedingungen aus rechts- und linksdrehendem Zucker gleichviel Glykogen produziert. Sodann wird über die Untersuchungen betreffend die Atmung der Hefe berichtet. Die Atmungsvorgänge lassen sich mit Hilfe der Inversions- und der Jodabsorptionsmethode verfolgen. Endlich wird noch die Umsetzung durch Oxydasewirkung in der Zelle, die Spaltung von Wasserstoffsuperoxyd durch die Hefe, das Philothion, der Reduktionskörper und die Hydrogenase besprochen. Kausch (Charlottenburg).

Griessmayer, Ueber die Ursache der Selbstverdauung der Hefe. (Allgemeine Brauer- und Hopfenzeitung. Jahrg. XLIV. 1904. No. 255.)

Verf. gibt eine Uebersicht über die Arbeiten Schützenbergers, Salkowskis, Kutschers, Lohmanns und Levenes betreffend die Ermittelung der Produkte der Selbstverdauung der Hefe, und weist

sodann auf die Untersuchungen Iwanoffs über die Ursache der Selbstverdauung der Hefe hin. Letzterer hat gefunden, daß verschiedene Pilze, wie Aspergillus niger, Penicillium glaucum, ein Enzym, die Nuklease, enthalten, welches das Natriumsalz der Thymusnukleïnsäure einer tiefgreifenden Spaltung unterzieht, die zur Bildung von Phosphorsäure und Xanthinbasen führt. Diese Nuklease besorgt die Aufspaltung des Nukloproteids, welches in erheblicher Menge in jeder Zelle im Embryonalstadium enthalten ist, in dem Maße, wie die Entwickelung fortschreitet. Dieses Enzym ist schon von Jonas und Whipple am Nebennierenextrakt, von Levene am Bauchspeicheldrüsenextrakt, von Walter Jonas am Extrakt der Thymusdrüse, sowie bei der Verdauung der Milz nachgewiesen worden.

Kausch (Charlottenburg).

Pfister, F. R., Einige Bemerkungen über das Milchsäure-Lufthefeverfahren. (Oesterreichische Brennerei-Zeitung. Jahrg. II. 1904. No. 20.)

Verf. bespricht die zur Erzielung reiner Milchsäure erforderlichen Faktoren. An der Milchsäuregärung sind verschiedene Rassen des Milchsäurefermentes beteiligt. Durch die Gegenwart freier Säuren, sogar durch die gebildete Milchsäure kann die Tätigkeit des Milchsäureferments nicht nur eingeschränkt, sondern auch vollkommen behindert werden. Ferner ist bei der Milchgärung ebenso wie bei der Alkoholgärung eine Ausgärung, Haupt- und Nachgärung zu unterscheiden. Verf. kommt zu der Schlußfolgerung, daß das Lufthefemilchsäureverfahren zur Einleitung der Milchsäuregärung die Verwendung einer passenden Aussaat reingezüchteten Milchsäurefermentes verlangt, und daß gleichzeitig dafür Sorge getragen werden muß, daß während der gesamten Dauer der Milchsäuregärung das Temperaturoptimum von 42—45 ° R erreicht wird.

Kausch (Charlottenburg).

Wagner, Paul, Die Wanderungen und Wandlungen des Stickstoffs in der Natur, und die Nutzung und Beherrschung derselben in der landwirtschaftlichen Praxis. (Arb. d. Deutsch. Landw.-Gesellsch. Heft 98. Vorträge, gehalten auf dem V. Lehrgang für Wanderlehrer. 1904. p. 28—46.)

Nach einigen einleitenden allgemeinen Bemerkungen über den Kreislauf des Stickstoffs in der Natur, sowie über die Rolle, die den Bakterien hierbei zufällt, wird die Frage der Leguminosenimpfung kurz berührt, sodann die Wiesendüngung und die Stickstoffumsetzungen im Dünger und im Boden eingehend behandelt. Den Stickstoffverlusten in der Jauche wird nur sehr geringe Bedeutung beigemessen (allerdings auf Grund von Versuchen, die unter Bedingungen angestellt wurden, welche zum Teil [völliger Verschluß der Grube!] in der Praxis nicht innegehalten werden können, Ref.). Hinsichtlich der Stickstoffkonservierung im Stalldünger pflichtet W. der Ansicht bei, daß die Verwendung der chemischen Konservierungsmittel in der in der Praxis üblichen Menge unwirksam, in größeren Quantitäten zwar wirksam, aber zu teuer sei. Betreffs der durch die mechanische Stallmistkonservierung möglichen Verminderung der Stickstoffverluste glaubt W., daß auch das auf diese Weise erhaltene Ammoniak doch beim Ausfahren und Breiten des Düngers verloren gehe. Nach den ausgeführten Berechnungen wäre allerdings der Verlust nicht

bedeutend. — Von dem mit dem Dünger in den Boden gebrachten Ammoniak wird behauptet, daß auch der darin enthaltene Stickstoff durch „drei verschiedene Tore“ entschlüpfen kann: 1) verdunste das Ammoniak, 2) werde der aus dem Ammoniak entstehende Salpeter in durchlässigem Boden durch die Herbst- und Winterwässer in den Untergrund geführt, und 3) gehe der Stickstoff infolge von Denitrifikation verloren. (Für die behauptete Ammoniakverdunstung fehlt noch jeder Beweis, da bisher nur festgestellt ist [Arbeit. d. D. L.-G. Heft 80], daß bei Vermischung relativ großer Mengen Ammonsulfat mit flach ausgebreiteter kalkreicher Erde der Ammoniakstickstoff als solcher abnimmt; Gesamtstickstoffbestimmungen wurden nicht mitgeteilt. Die Salpeterverluste während des Winters bedürfen ebenfalls noch des Beweises; sie dürften beim Unterpflügen des Düngers im Herbst infolge der niedrigen Temperatur kaum beträchtlich sein. Daß W. seine vor 10 Jahren aufgestellte und inzwischen seitens verschiedener Forscher in mehr als ausreichender Weise auf das gehörige Maß zurückgeführte Denitrifikationstheorie in unveränderter Form aufrecht erhält, muß einigermaßen befremdend wirken. Ref..) Die Ausnutzung des Stallmiststickstoffs setzt W. immer noch sehr niedrig, bei 4-jähriger Versuchsdauer zu 25 Proz., an. Die völlig hiervon abweichenden Erfahrungen der praktischen und theoretischen Landwirtschaft sind „handgreiflich unrichtig“. „Ohne jede Prüfung, allein schon durch ein bißchen Ueberlegung (!) hätte man erkennen sollen, daß der Stallmiststickstoff nur sehr langsam in Salpetersäure übergehen und mit der Wirkung des Chilesalpeters gar nicht in Vergleich gestellt werden kann.“

Der Stickstoffassimilation durch freilebende Bakterien mißt W. große Bedeutung bei, besonders lebhaft soll sich dieselbe auf dem Rübenfelde infolge der Schattengare vollziehen. Dieser Prozeß müsse möglichst gefördert werden. „Wir haben mit erheblichen Stickstoffverlusten zu rechnen. Durch möglichst hohe Stickstoffgewinne müssen wir die Verluste decken.“ Einige dahin zielende Vorschläge für die Durchführung des praktischen Betriebes bilden den Schluß des Vortrages.

Löhnis (Leipzig).

Hiltner, Ueber neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. (Arb. d. Deutsch. Landw.-Gesellsch. Heft 98. Vorträge, gehalten auf dem V. Lehrgang für Wanderlehrer. 1904. p. 59—78.)

Zunächst wird über die Zahl der Bakterien im Boden über den „Gleichgewichtszustand“ und über die Schwefelkohlenstoffversuche (Arb. a. d. biol. Abt. d. kais. Ges.-Amtes. Bd. III. Heft 5) gesprochen. Was die Nitrifikation anlangt, so ist es nach H. in hohem Grade wahrscheinlich, daß auch andere, außer den von Winogradsky entdeckten Arten diese Umsetzung auszuführen vermögen. Die Denitrifikation wird kurz berührt und zur Frage der sogenannten Eiweißbildung ein sehr interessanter Fall mitgeteilt, in welchem bei einem Topfversuch eine Ammonsulfatdüngung zwei Jahre hindurch völlig wirkungslos blieb, und erst nach einer durchgreifenden Lockerung im dritten Jahre in überraschender Weise wirkte. Anschließend an die Besprechung dieses Versuches folgen sehr beachtenswerte Worte über den Wert der Topfversuche und die bei Verallgemeinerung von auf diesem Wege erlangten Resultaten erforderliche Vorsicht. Die stickstoffassimilierende Fähigkeit des Azotobakter wird kurz

behandelt und der von Remy, sowie von Hiltner und Störmer neuerdings benutzten Untersuchungsmethoden gedacht. Ueber die neueren Leguminosenimpfversuche wird berichtet, daß 83 Proz. derselben günstige Resultate lieferten, namentlich ergaben sich für Serradella und Lupinen unerwartete Erfolge: ungeimpft = 100, gelbe Lupine 170—3100, blaue Lupine 167—688, Serradella 147—8000. Hinsichtlich der Frage nach der Bedeutung der Virulenz, oder besser „Wirkungskraft“ der Knöllchenbakterien verwahrt sich H. gegenüber Remy und Süchting, die Frank alle Prioritätsrechte in dieser Angelegenheit zuerkennen wollen, während doch Frank nur von der Möglichkeit gesprochen, H. dagegen die ganze Sachlage eingehend und in viel umfassenderer Weise, als Frank vermutete, durch tatsächliche Befunde geklärt hat. Sodann wird der Beobachtungen gedacht, die zur Aufstellung der zwei Arten von Knöllchenbakterien (Rhizobium Beijerinckii und Rhizobium radicicola) führten.

Dieser Erörterung feststehender Tatsachen folgt eine Besprechung verschiedener bakteriologischer Probleme.

Auf Grund der Beobachtung, daß das bei der Stickstoffassimilation in den Wurzelknöllchen beteiligte Plasma oder die „chromatische Substanz“ aus den in Lösungen gebildeten Bakteroiden schwindet, sobald Salpeter oder eine andere von höheren Pflanzen aufnehmbare Stickstoffverbindung zugesetzt wird, wird die Hypothese aufgestellt, daß in den Böden, in denen die Leguminosen üppig wachsen und große Mengen Stickstoff binden, keine Nitrifikation stattfinde, bezw. soll der bereits vorhandene lösliche Bodenstickstoff durch gewisse, außerhalb der Leguminosenwurzeln lebende Bakterien, mit denen die an den Boden wirklich angepaßten Leguminosenpflanzen (außer mit den in ihre Wurzeln eindringenden Knöllchenbakterien) in nähere Beziehung treten, in eine unlösliche, von den Pflanzen zunächst nicht aufnehmbare, aber wieder leicht zersetzliche Form übergeführt werden. Durch diese Festlegung sollen auch die im Boden freilebenden stickstoffsammelnden Bakterien innerhalb der Einflußsphäre der Leguminosenwurzeln, wofür der Ausdruck „Rhizosphäre“ eingeführt wird, in ihrer Tätigkeit erheblich gefördert werden, „und erst dadurch, und keineswegs durch die Knöllchenwirkung allein läßt es sich erklären, warum die Leguminosen den Boden mit Stickstoff anreichern.“ Da die Richtigkeit dieser Hypothese steht oder fällt mit dem Nachweis, ob wirklich die Nitrifikation im Leguminosenfelde sistiert ist oder nicht, so nimmt H. fernerhin an, daß dies in der Tat der Fall sei. Es ergibt sich demnach: „Innerhalb der Rhizosphären der Leguminosen findet also eine von der Knöllchenwirkung unabhängige Stickstoffsammlung statt.“ Hiermit wird die günstige Nachwirkung eines dichten Leguminosenbestandes, sowie die mangelhafte eines dünnen Bestandes erklärt; unter letzterem unterbleibt, da die Rhizosphären einander nicht berühren, die Stickstoffassimilation, stattdessen kann hier eine Auswaschung des gebildeten Salpeters erfolgen. Praktisch wichtig ist diese Frage insofern, als es durch Einimpfen solcher Bakterien, welche die löslichen Stickstoffverbindungen festlegen, möglich würde, das Stickstoffsammlungsvermögen sowohl der Knöllchenbakterien wie der freilebenden Bakterien zu erhöhen. Versuche in dieser Richtung sind eingeleitet.

Ferner wird ein Zusammenhang des je nach den spezifischen Wurzelausscheidungen der verschiedenen Kulturpflanzen innerhalb der Rhizosphären vermuteten differenten Bakterienbestandes und dem abweichenden

Ausnutzungsvermögen der Pflanzen für gewisse Nährstoffe des Bodens angenommen. Die von H. beobachtete der ektotrophen Mycorrhiza vergleichbare „Bacteriorrhiza“ (Ansammlung bestimmter Bakterien auf der Oberfläche der Wurzeln und in den oberen Zellschichten derselben) ist als Schutzorgan gegen das Eindringen schädlicher Organismen in die Wurzeln, wodurch eine Art der Bodenmüdigkeit veranlaßt wird, anzusehen. Die experimentelle Lösung dieses Problems ist ebenfalls bereits in Angriff genommen.

In Moor-, Heide-, Wald- und Wiesenböden, „in denen bestimmt eine lebhafte Stickstoffassimilation vor sich geht“, findet „erwiesenermaßen keine Nitrifikation“ statt. Die Wald-, Wiesen-, Moor- und Heidepflanzen, „sie alle leben ohne Salpeterstickstoff“. Der Humusstickstoff soll von höheren Pflanzen mit Hilfe der Bacteriorrhiza ausgenutzt werden können.

Da angenommen wurde, daß Stickstoffsammlung und Salpeterbildung „nur einander folgen können“, so wird dies auch für die Brache vermutet und der Satz aufgestellt: „Die Nitrifikation kann wohl nach erlangter Gare im Boden lebhafter werden, aber seine Gare erlangt er zum Teil gerade dadurch, daß in ihm längere Zeit die Nitrifikation verhindert war. Wie könnte es auch anders sein!“, da „durch wiederholte Düngung mit Chilesalpeter der Boden eher verkrustet als mürbe wird.“ (Bisher waren allerdings die Landwirte und Chemiker der Ansicht, daß diese Erscheinung durch den Natrongehalt dieses Düngemittels bewirkt werde[1]). Ref.) Was speziell den Caronschen Alinitbacillus anlangt, so hat dieser, da infolge des Brachens die Zahl der gelatinewüchsigen Bakterien abnimmt, allerdings mit der Brache direkt nichts zu tun, es scheint aber nicht ausgeschlossen, „daß diese Art innerhalb der Rhizosphäre gewisser Pflanzen trotzdem eine wichtige Rolle spielen kann“. Schließlich wird noch des Wertes des Humus gedacht als Nährstofflieferant für die Mikroorganismen des Bodens. (Hoffentlich gelingt es H., in nicht allzu ferner Zeit die Beweise für die neu aufgestellten Hypothesen zu erbringen. Das dem Vortragenden selbst aufgestiegene Bedenken, ob eine Darlegung solch weitausgreifender Gedankenpläne vor Landwirtschaftslehrern überhaupt am Platze war, muß Ref. allerdings als sehr begründet anerkennen.) Löhnis (Leipzig).

Stoklasa, Julius, Ueber die Schicksale des Chilisalpeters im Boden bei der Kultur der Zuckerrübe. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1904. p. 321.)

Bei der bekannten Tatsache, daß der Chilisalpeter ein Mittel ist, welches den Ertrag per Hektar sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht steigert, hat man auf eine wichtige Erscheinung keine Rücksicht genommen, nämlich auf die, daß die biochemischen Vorgänge im Boden durch Zugabe von Chilisalpeter ungemein gehoben werden. Stickstoff ist ja nicht nur ein sehr wichtiger Nährstoff für die Pflanzen, sondern auch ein solcher für gewisse Mikroorganismen, und man sieht jetzt nach den neuesten Forschungen, welche Wichtigkeit der Vermehrung derselben im Boden zukommt, und welchen Einfluß sie auf die Fruchtbarkeit der Ackerkrume ausüben, und die Vermehrung speziell

1) Vergl. auch die gegen die oben angeführten Sätze Hiltners gerichteten Ausführungen von Wohltmann und Schneider in der Deutschen landw. Presse. Bd. XXXI. 1904. No. 102. p. 854.

dieser Mikroorganismen (Algen und Ammonisationsbakterien), welche im Salpeter eine willkommene Stickstoffquelle finden, wird durch das Vorhandensein des Chilisalpeters ungemein unterstützt. Nach den Untersuchungen des Verf. existieren nachstehende Gruppen von Bakterien im Boden, welche den Kreislauf des Stickstoffs in demselben bedingen: I. Gruppe: Bakterien, welche den Luftstickstoff assimilieren und denselben in organische Moleküle überführen. II. Gruppe: Bakterien, welche die stickstoffhaltigen organischen Substanzen zersetzen und als Endprodukt Ammoniak bilden. III. Gruppe: Nitrosationsbakterien. Diese Gruppe oxydiert Ammoniak zu salpetriger Säure. IV. Gruppe: Nitrifikationsbakterien, welche die salpetrige Säure zu Salpetersäure oxydieren. V. Gruppe: Hierher gehören jene Bakterien, welche umgekehrt die Nitrate in Nitrite reduzieren und schließlich bis auf die Ammoniakstufe bringen. VI. Gruppe: Denitrifikationsbakterien, welche einen großen Teil der Nitrate in Nitrite und schließlich die salpetrige Säure in elementaren Stickstoff reduzieren. In einem bestimmten Nährmedium bewirken sie die Nitratgärung. VII. Gruppe: Hierher gehören jene Bakterien, welche aus Ammoniak, salpetriger und Salpetersäure durch synthetische Prozesse Eiweißstoffe und überhaupt organische, stickstoffhaltige Substanzen bei Gegenwart organischer Säuren oder von Kohlenhydraten bilden. Diese Gruppe zählt Bakterien aus allen angeführten Gruppen.

Im Boden, bezw. in der Ackerkrume, hat man es fortwährend mit parallel verlaufenden, sich gegenseitig ergänzenden biologischen Prozessen zu tun, welche im wesentlichen bestehen: 1) in der Reduktion der Salpetersäure bis auf Ammoniak, und 2) in der Oxydation von Ammoniak zu salpetriger und Salpetersäure, wobei jedoch bei allen diesen Prozessen immer organischer Stickstoff im neuen, lebenden Molekül der Bakterien entsteht; 3) in der Assimilation der Salpetersäure des Chilisalpeters von den Algen und Schimmelpilzen und Ueberführung des Salpetersäurestickstoffs in organische Form; 4) Ueberführung der organischen stickstoffhaltigen Substanzen der Algen, Schimmelpilze, Bakterien und Reste der Rübenwurzeln in Ammoniak resp. in Salpetersäure. Es geht also ein interessanter Kreislauf und eine ständige Metamorphose des Nitratstickstoffs im Boden vor sich, welcher von den niederen Organismen hervorgerufen wird. Hierbei darf nicht übersehen werden, daß nicht nur der Salpeterstickstoff große Wichtigkeit für die Entwickelung der niederen Flora hat und für die höheren Pflanzen der aufnahmsfähigste Nährstoff ist, sondern, daß auch die Salpetersäure die Oxydationsprozesse in der Zelle ungemein fördert. Verf. ist ferner durch seine neuesten Untersuchungen zu dem Resultat gekommen, daß beim Abbau der Kohlenhydrate das letzte Produkt Wasserstoff ist, welcher durch die Salpetersäure zu Wasser oxydiert wird. Bei der Düngung der Zuckerrübe mit Salpeter kommen die Gaben des Chilisalpeters nicht nur der Vegetation der Zuckerrübe zu gute, sondern es wird auch durch die Tätigkeit der niederen Organismen ein Vorrat an Stickstoff im Boden gehäuft, welcher der Nachfrucht zum Vorteil gereicht. Auf Grund der vorstehenden Erwägungen kann man auch eine Vorstellung davon gewinnen, warum trotz der großen Gaben an Chilisalpeter das Salpetersäureanhydrid nur in minimalen Quantitäten in der Ackerkrume nachgewiesen werden kann. Es befindet sich nämlich der Salpeterstickstoff in fortwährendem Kreislauf, in permanenter Umwandlung, und bei einem gut bearbeiteten Boden (speziell einem Lehmboden) kann von einem unbenützten Verschwinden des Salpeters gar keine Rede sein. Stift (Wien).

Lindroth, J. J., Mykologische Mitteilungen V—X. (Acta Soc. pro Fauna et Flora fennica. T. XXII. 1902. No. 3. p. 20.)

Chrysomyxa Cassandrae (Gobi) Tranzsch. kommt auf Cassandra calyculata im östlichen Teile Skandinaviens, Finnlands und im nordwestlichen Rußland in der Uredogeneration ziemlich häufig vor. Teleutosporen waren bisher nur von Tranzschel beobachtet worden. Verf. fand dieselbe neuerdings wiederum auf und gibt eine genaue Beschreibung dieser Fruchtform. Die Teleutosporenlager sind so winzig, daß man diese nicht einmal mit der Lupe zu sehen im stande ist. Die Sporen selbst sind unter dem Mikroskope ganz hyalin.

Die Konidien von Ovularia salicina Vestergr., welche auf Salix-Arten in Finnland und Schweden auftritt, sind mit reichlichen, über die ganze Spore gleichmäßig zerstreuten, zugespitzten, kurzen Stacheln versehen, während die echten Ovularia- und Ramularia-Arten glatte Konidien besitzen. Auf Grund dieses Merkmals stellt Verf. für die genannte Species eine neue Gattung auf, welche Ramulaspera benannt wird.

Hieran anschließend werden als neu beschrieben: Ovularia Scabiosae auf Blättern von Centaurea Scabiosa, O. Bistortae auf Blättern von Polygonum Bistorta; O. Chamaedryis auf Blättern von Veronica Chamaedrys; Ramularia Centaureae auf Blättern von Centaurea phrygia var. austriaca.

Cercosporella Pastinacae Karst. gehört zur Gattung Ramularia. Die auf Solanum tuberosum schädigend auftretende Cercospora concors wurde 1902 zum ersten Male in Finnland beobachtet.

Weiter beschreibt Verf. einige neue auf Cruciferen und Compositen auftretende Uredineen, nämlich: Puccinia Eutremae auf Eutrema Edwardsii (Finnland), P. Cochleariae auf mehreren Cochlearia-Arten in Frankreich und Grönland, P. Alyssi auf Alyssum spinosum in Spanien; Uredo Crepidis-integrae auf Crepis integra in Japan, U. Crepidis-japonicae auf Crepis japonica in Australien.

Sodann bespricht Verf. einige Rubiaceen bewohnende Rostpilze, nämlich Pucc. Crucianellae Desm., Uredo mediterranea Lindr. und Puccinia ansata n. sp. auf mehreren Crucianella-Arten in Phrygien und Griechenland (letztere ist mit der früher beschriebenen Pucc. syriaca Syd. jedoch identisch! Ref.).

Schließlich gibt Verf. noch eine genaue Beschreibung von Melampsora Hirculi n. sp. auf Saxifraga Hirculus aus Finnland, Rußland und der Schweiz.

H. Sydow (Berlin).

Lindroth, J., Beiträge zur Kenntnis der Zersetzungserscheinungen des Birkenholzes. (Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. II. 1904. p. 393—406, mit 7 Abbildungen.)

Polyporus nigricans Fr. ist weit verbreitet (Europa, Asien, Amerika) und kommt nicht nur an Birken, sondern auch an Weiden, z. B. Salix caprea, und Pappeln, z. B. Populus tremula, vor. An letzteren Bäumen bildet er die am normalsten entwickelten Fruchtkörper, an Birken dahingegen sind die Hüte sehr unregelmäßig gestaltet, meist sogar steril, indem ein Hymenium nicht zur Entwickelung gelangt.

Die Zersetzungserscheinungen, welche er im Birkenholz hervorruft, lassen sich kurz folgendermaßen charakterisieren: Die Ausbreitung des Pilzes erfolgt vom Mark aus (zu diesem Zweck muß er durch tiefe Wunden — Ast- oder Wurzelbrüche, event. auch Frostspalten — zuerst bis zum Mark vordringen). Der Baum setzt dem Weiterumsichgreifen der Pilzfäule eine Schranke, indem er einen Wundkern bildet. Dieser ist sehr reich an Holzgummi und erhöht das spezifische Gewicht des Holzes von 0,99 auf 1,23. Die Auflösung der Zellwände geschieht wie folgt: Zuerst wird die innerste (hauptsächlich aus Cellulose bestehende) Wandschicht resorbiert. Der Reihe nach verschwinden nun aus der mittleren Wandschicht zuerst das Hadromal (Reaktion mit Phloroglucin) und sodann das Lignin (Reaktion mit Kaliumpermanganat); schließlich

wird die Mittellamelle angegriffen und auch ihre inkrustierenden Stoffe in der gleichen Reihenfolge zerstört. Zum Schluß wird die zurückbleibende reine Cellulose allmählich aufgezehrt. Die Gefäße und das Herbstholz sind am widerstandsfähigsten. Die jüngeren Hyphen des Pilzes — besonders die enzymabsondernden — sind zart und hyalin. In älterem, stark zersetztem Holz finden sich braune bis goldgelbe, dickere Hyphen, stellenweise sogar sehr dickwandige Hyphenzweige.

Eine merkwürdige Erscheinung stellt sich ein, wenn ein von P. nigricans durchsetzter Stamm der Länge nach gespalten und die Spaltfläche der atmosphärischen Luft ausgesetzt wird. Nach einigen Tagen bildet sich ca. 0,5 mm unter der Spaltfläche eine tiefbraune, sehr dünne Schicht von pseudoparenchymatischem Mycelgewebe. Die dunkle Farbe ist indessen, wie Verf. konstatierte, nicht auf die Anwesenheit von Gerbstoff zurückzuführen. Zum Schluß werden in vergleichender Weise die verschiedenen durch andere Polyporus-Arten verursachten Zersetzungserscheinungen des Birkenholzes besprochen.

Neger (Eisenach).

Salmon, E. S., On Erysiphe graminis and its adaptive parasitism within the genus Bromus. (Annales mycologici. Bd. II. 1904. p. 307—344, mit 9 Tabellen.)

In dieser Abhandlung gibt Verf. eingehenden Bericht über seine zahlreichen interessanten Infektionsversuche mit Bromus-Meltau. Aus denselben geht hervor, daß eine Reihe von an bestimmte Bromus-Arten angepaßte Rassen der Forma specialis „Bromi“ des Grasmeltaus unterschieden werden können. Merkwürdig ist, daß bei der Empfänglichkeit der einzelnen Bromus-Arten für Infektion ihre systematische Verwandtschaft nur eine geringe oder gar keine Rolle spielt, d. h. im System einander fernstehende Arten werden durch eine und dieselbe Meltaurasse infiziert, andererseits sind nahe verwandte Bromus-Arten an verschiedene Rassen angepaßt. Bekanntlich unterscheidet Verf. normale und Subinfektionen. Letztere werden an denjenigen Bromus-Arten beobachtet, welche an eine bestimmte Rasse noch nicht vollkommen angepaßt sind. Außerdem können Subinfektionen zustande kommen, wenn die Wirtpflanze durch mechanische Verletzung oder durch tierische Schädigung gewissermaßen geschwächt ist; dann kann es vorkommen, daß sie durch eine Rasse infiziert wird, der gegenüber sie sich sonst immun erweist. Die Resultate der Infektionsversuche des Verf. stehen zum Teil in scheinbarem Widerspruch zu einander. So findet er. daß E. graminis von B. commutatus zwar hordaceus, nicht aber racemosus infiziert. Andererseits gelang es mit E. graminis von B. racemosus den B. hordaceus, nicht aber B. commutatus zu infizieren. In diesen Fällen dürften die von Salmon bei den Erysipheen (ähnlich wie von M. Ward bei den Uredineen) entdeckten „bridgeing species“ eine Rolle spielen. Nachfolgende Zusammenstellung gibt die wichtigsten Versuchsergebnisse wieder:

1) E. graminis von B. commutatus:

Volle Infektion: B. secalinus, adoensis, patulus, hordaceus, arduennensis, crinitus, squarrosus.

Subinfektion: B. tectorum, brizaeformis, Krausei, marginatus, laxus, kalmii, valdivianus, pungens, arduennensis var. villosus.

Keine Infektion: B. racemosus, macrostachys, mollis var.

Uoydianus und var. grossus, Biebersteini, angustifolius, rigidus, madritensis, ciliatus var. laxus, marginatus, arvensis, arvensis var. parviflorus.

2) E. graminis von B. secalinus.

Volle Infektion: velutinus, commutatus, adoensis, hordaceus, arduennensis, patulus, Kalmii, crinitus.

Subinfektion: brizaeformis, fibrosus, condensatus, tectorum var. virens.

Keine Infektion: racemosus, sterilis, mollis, interruptus, macrostachys, pungeus, angustifolius, laxus, Gresoni, propendeus, madritensis var. Delilei, marginatus.

3) E. graminis von B. velutinus:

Volle Infektion: patulus, adoensis.

Subinfektion: brizaeformis, hordaceus.

Keine Infektion: racemosus, arvensis, tectorum, madritensis, mollis, crinitus.

4) E. graminis von B. racemosus:

Volle Infektion: hordaceus, Krausei, patulus.

Subinfektion: adoensis, arduennensis, arduennensis var. villosus.

Keine Infektion: commutatus, madritensis, tectorum, squarrosus.

5) E. graminis von B. arduennensis:

Volle Infektion: adoensis, hordaceus, patulus (?).

Subinfektion: tectorum.

Keine Infektion: unioloides, mollis, sterilis, commutatus, madritensis, Gresoni.

6) E. graminis von B. arduennensis var. villosus:

Volle Infektion: hordaceus, adoensis, mollis.

Keine Infektion: arduennensis.

7) E. graminis von B. patulus:

Volle Infektion: hordaceus.

8) E. graminis von B. adoensis:

Volle Infektion: hordaceus.

Keine Infektion: interruptus, mollis.

9) E. graminis von B. hordaceus:

Volle Infektion: Krausei, commutatus.

Subinfektion: arduennensis.

Keine Infektion: madritensis, racemosus.

Neger (Eisenach).

Eckstein, K., Beiträge zur genaueren Kenntnis einiger Nadelholzschädlinge. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdw. Jahrg. XXXVI. 1904. p. 355—366. 15 Fig.)

Beschädigungen der Samen und Keimlinge von Koniferen dicht über oder im Boden rühren gewöhnlich von Drahtwürmern, Engerlingen oder Maulwurfsgrillen her, doch sind es öfters andere Feinde aus den Kerbtieren, die der Forstinsektenkunde bisher nicht beachtenswert waren; zur Ausfüllung solcher Lücken dienen Es. Beobachtungen, die allerdings in mehrfacher Hinsicht noch nichts Abgeschlossenes bieten. Die Melolonthide Hoplia graminicola wird für Larvenfraß auf einem Kiefernsaatbeet verantwortlich gemacht, Aelchenwürmer einer nicht bestimmten Gattung oder Pilze aus der U. F. Pythinae für Wurzelvertrocknung

von Kieferpflänzchen. Junge Kiefern können etwas oberirdisch von der Feldheuschrecke Gomphocerus biguttatus Brm. durchnagt oder von Finken abgebissen werden. Die Samen jenes Nadelholzbaumes wurden trotz des sonst so bewährten Färbens mit Mennige einmal von Amseln enthülst und verzehrt. Während von den Laufkäfern bisher nur Harpalus pubescens unter den schädlichen Forstinsekten genannt wird, weist Verf. 4 Arten der winzigen Gattung Bembidium die gelegentliche Zerstörungen von Samen und Pflänzchen der Pinus-Arten nach; an letzterem Werke beteiligte sich die Anthicide Anthicus flavipes Panz. Von einem weiteren neuen Kiefernsaatenschädling, dem Blattkäfer Adimonia tanaceti L., konnte die Verwandlung und charakteristische Fraßweise dargelegt werden. Erfreulicherweise finden die neuerdings sich mehrenden Fälle vom Fraße der Tipula-Larven an jüngsten bis etwa 2-jährigen Fichten eine Zurückführung auf bestimmte Arten: Tipula subnodicornis und T. pabulina, sowie Pachyrhina iridicolor Schuhm. und P. histrio F. Ref. beobachtete in den letzten 2 Jahren bei Tharandt ganz ähnliche Erscheinungen, die ebenfalls nach den gefangenen Imagines letzteren beiden Arten zuzuschreiben sein dürften. Jacobi (Tharandt).

Wimmer, G., Ueber die Wirkung der Nematoden auf Ertrag und Zusammensetzung der Zuckerrüben. (Zeitschrift für angewandte Chemie. 1904. p. 1719.)

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß ein Teil der Pflanzen ohne Nematoden aufgezogen wurde, während ein anderer Teil der Töpfe mit wenig und ein dritter Teil mit viel Nematoden infiziert wurde. Bei der Feststellung der Ernte kommt es für den Landwirt hauptsächlich auf die Rüben und weniger auf das Kraut an, während aber für die Beurteilung der Frage, ob eine Rübe normal gewachsen ist, die Feststellung der prozentischen Krautmenge von größter Wichtigkeit ist. Die Gesamttrockensubstanz einer normal ernährten Rübenpflanze enthält etwa 65 Proz. Rübe und 35 Proz. Kraut. Durch Einwirkung der Nematoden wird nun auch bei ganz normaler Düngung die Erntemenge stets heruntergedrückt, und zwar die der Rüben um etwa 32 Proz., die des Krautes um 7 Proz., d. h. es steigt in derartig geschädigten Rüben der prozentische Krautgehalt. Bei normaler Düngung werden der Rübenpflanze durch die Nematoden alle wichtigen Nährstoffe in nahezu gleicher Weise entzogen. Die ganze Rübenpflanze, also Rübe und Kraut zusammen, enthielt der nicht durch Nematoden geschädigten gegenüber —33 Proz. N, —27 Proz. P_2O_5, —30 Proz. K_2O, —27 Proz. Na_2O, —28 Proz. MgO, aber +12 Proz. CaO. Betrachtet man diesen Nährstoffausfall für Rübe und Kraut gesondert, so wird die Hauptmenge der Rübe entzogen, der kleinere Teil den Blättern. Bei der Rübe wurden gefunden: —54 Proz. N, —49 Proz. P_2O_5, —52 Proz. K_2O, —50 Proz. Na_2O, —43 Proz. MgO, —19 Proz. CaO; beim Kraut: —11 Proz. N, —11 Proz. P_2O_5, —17 Proz. K_2O, —24 Proz. Na_2O, —25 Proz. MgO, +16 Proz. CaO. Etwas anders stellt sich die Verminderung des Nährstoffgehalts durch die Nematoden bei schwacher Kalidüngung. Hier wurden in der nicht durch Nematoden geschädigten Rübe gegenüber in der ganzen Pflanze gefunden: —40 Proz. N, —61 Proz. K_2O, —3 Proz. Na_2O, —29 Proz. MgO, —33 Proz. CaO; in der Rübe allein: —65 Proz. N, —75 Proz. K_2O, +22 Proz. Na_2O, —48 Proz. MgO, —9 Proz. CaO; im Kraut allein: —1 Proz. N, —46 Proz. K_2O, —6 Proz. Na_2O, —24 Proz.

MgO, —35 Proz. CaO. Was die durch die Nematoden bewirkte Veränderung des Zuckergehaltes in den Rüben anbetrifft, so wurde bei normaler Düngung gemäß der Verminderung des Rübengewichts um 32 Proz. eine Verminderung der geernteten Zuckermenge um 29 Proz. gefunden; der prozentische Zuckergehalt in der Rübe ist jedoch nicht erniedrigt. Bei schwacher Kalidüngung wurde bei einer Erniedrigung des Rübengewichts um 59 Proz. ein Ausfall der Zuckerernte um 66 Proz. gefunden; der prozentische Zuckergehalt in der Rübe ist aber um etwa die Hälfte der nicht durch Nematoden geschädigten Rübe gegenüber gesunken.

Nachdem die Wurzeln der Rüben in empfindlichster Weise durch die Nematoden geschädigt werden, so liegt die Annahme nahe, daß dadurch einfach eine verminderte Nährstoffaufnahme erfolgt. Diese Annahme scheint aber nach den erhaltenen Resultaten nicht zulässig zu sein, denn es ist nicht einzusehen, warum dann nicht alle Nährstoffe in gleicher Weise davon betroffen werden sollten. Da dieses nicht der Fall ist, so kann man nach Hellriegel nur annehmen, daß die Nematoden eine saugende Wirkung ausüben, daß die durch Nematoden geschädigten Rüben aber im übrigen genau den allgemein gültigen Ernährungsgesetzen folgen, wozu sie durch die fortgesetzte schnelle Neubildung von Wurzeln befähigt werden. Diese Annahme steht im vollen Einklang damit, daß bei Kalimangel, sonst aber normaler Düngung, die vom Kraut aufgenommene Stickstoffmenge nicht sank; daß da, wo das Kali fehlte, wie auch sonst in den Pflanzen, der Natrongehalt stark erhöht wurde; ferner mit dem abweichenden Verhalten des Kalkes und schließlich mit der Zuckerbildung. Letztere steht bekanntlich mit dem Kali in engem Zusammenhang. Bei reichlicher Kalidüngung wurde zwar die Gesamtzuckerernte vermindert, aber der prozentische Zuckergehalt in der Rübe sank nicht, weil eben durch fortgesetzte Neuaufnahme von Kali die Zuckerbildung ungestört ihren Fortgang nehmen konnte; bei Kalimangel sank nicht nur die Zuckerernte, sondern auch der prozentische Zuckergehalt, wie stets in Rüben, die bei starkem Kalimangel wachsen, weil eben keine Möglichkeit zur Neubildung vorhanden war. Durch die Düngung allein wird sich der Nematodenschaden kaum ganz aus der Welt schaffen lassen, denn wenn es auch gelingen sollte, durch reiche allgemeine Ueberschußdüngung, welche die Pflanzen in die Lage bringt, die entzogenen Nährstoffe stets durch neue zu ersetzen, den Nematodenschaden zu vermindern oder gar zu verhüten — manche Beispiele aus der Praxis scheinen dieses zu bestätigen — so verringert sich bei einer Ueberschußdüngung, besonders mit Stickstoff, stets die Rentabilität des Rübenbaues. Vor allen Dingen aber darf man dort, wo Nematodenschaden zu befürchten ist, das Kali nicht in das Minimum kommen lassen, um die Zuckerbildung nicht in ungünstiger Weise zu beeinflussen.

Stift (Wien).

Lüstner, G., Ueber die Bedeutung der Rückenröhren der Aphiden. (Bericht der königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1903. p. 175—184.)

Die Rückenröhren der Aphiden wurden zwar immer für Sekretionsorgane gehalten, ihr Zweck und die Natur des aus ihnen ausgeschiedenen Stoffes wurde jedoch in der verschiedensten Weise gedeutet. Angeregt durch die Untersuchungen Büsgens (Der Honigtau. Jena 1891), laut welchen in den Röhren Schutzwaffen zu erblicken sind, mit deren wachsartigen Sekreten sich die sonst wehrlosen Läuse gegen einige ihrer

Feinde verteidigen, hat Autor die Frage nach der Bedeutung dieser Röhren weiter verfolgt und dabei gefunden, daß sich deren Eigenschaft als Schutzwaffe auch durch Vergleichung dieser Organe bei Blattlausarten mit verschiedenem Aufenthaltsort und Körperbedeckung erklären läßt, und scheint die Länge der Röhren mit derjenigen der Beine und Fühler der Läuse in einem gewissen Abhängigkeitsverhältnis zu stehen. Als Feinde der Blattläuse können hauptsächlich verschiedene Coccinellen-Arten mit ihren Larven, die Larven der Schwebefliegen und Florfliegen und einige Schlupfwespenarten in Betracht gezogen werden. Bei einer Vergleichung der Rückenröhren bei den einzelnen Gattungen der Aphiden stellte sich heraus, daß dieselben der Länge nach verschiedenartig gestaltet sind und ergab sich dabei folgende Zusammenstellung:

Sehr lange Rückenröhren besitzen die Arten Siphonosphora und Drepanosiphum, mittellange Rhopalosiphum, Aphis und Toxoptera, während dieselben bei den anderen Arten der Blattläuse (Koch, Einteilung in: Die Pflanzenläuse. Nürnberg 1857) sehr kurz sind oder ganz fehlen. In der Gruppe der letzteren werden 26 Arten aufgezählt, wodurch aus der Zusammenstellung hervorgeht, daß die Zahl der Gattungen mit sehr langen oder mittellangen Röhren, die allein zur Abwehr der natürlichen Feinde in Betracht kommen, weit hinter der mit kurzen Röhren zurückbleibt.

Hinsichtlich der Körperbedeckung ergibt sich aus der Zusammenstellung die Tatsache, daß sich die Läuse hier beinahe ebenso gruppieren, wie bei der Einteilung hinsichtlich der Ausbildung ihrer Rückenröhren. Die nackten Läuse besitzen lange oder mittellange Röhren, während bei denjenigen, deren Körper mit stärkeren Haaren oder Wachsausscheidungen bedeckt ist, die Röhren sehr kurz ausgebildet oder nur noch in Form von kleinen Höckern vorhanden sind. Auch aus einer Gruppierung der Blattläuse bezüglich ihres Aufenthaltsortes ist zu ersehen, daß die mit langen Röhren versehenen Gattungen frei an den Blättern und Trieben leben, während bei denen, die sich an den holzigen Teilen der Bäume und Sträucher, in Gallen, in Wachsausscheidungen oder an Wurzeln entwickeln, die Röhren kurz bleiben.

Das Verteidigungsmittel der langröhrigen Gattungen ist ein wachsartiger Stoff, den sie dem Angreifer mit Hilfe der Röhren aufschmieren; selber ist es jedoch auch, welcher den Körper der kurzröhrigen Läuse bedekt und durch welchen allem Anscheine nach die Rückenröhren ersetzt werden. Die Blattläuse besitzen somit das Wachs in zwei verschiedenen Formen als Schutzmittel: einmal in flüssigem Zustand als Röhrensekret, dann aber auch in fester Form als Sekret der Wachsdrüsen, wodurch die Rückenröhren auch als zwei große Wachsdrüsen gelten können. Aus den Untersuchungen des Autors, als auch anderer angeführter Forscher geht weiterhin hervor, daß die Wachsausscheidungen weit bessere Schutzmittel als die Rückenröhren bieten. Aus den angeführten Zusammenstellungen ist ersichtlich, daß die festen Wachsausscheidungen auch an dem Körper solcher Läuse auftreten, die sich im Innern von Gallen und an Wurzeln entwickeln, wo sie an sich schon gegen die in Rede stehenden Feinde geschützt sind, folglich dieselben besondere Schutzvorrichtungen gar nicht benötigen würden; der Zweck dieser Einrichtung liegt hier in der Verhinderung der Benutzung, wodurch auch die bekannte Tatsache erklärlich wird, nach welcher z. B. die Blutläuse nur durch Anwendung wachsauflösender Stoffe zu töten

sind. Die festes Wachs in auffallender Weise ausscheidenden Gallenläuse werden gegen eine Benetzung durch ihre eigenen Exkremente auch auf diese Art und Weise geschützt.

Die schwächere Ausbildung der Wachsmassen bei Wurzelläusen ist wohl auf das lebhafte Umherkriechen dieser Tiere zwischen den Erdteilchen zurückzuführen, wobei die Wachsausscheidungen abgerieben werden. Die Reblaus wird vielleicht gerade aus dem zuletzt genannten Grunde ihre Wachsfäden verloren haben; daß sie früher solche ausgeschieden hat, ist an den auf ihrer Rückseite vorhandenen Resten der Wachsdrüsen noch zu erkennen, und ist die schon eingebüßte Produktionsfähigkeit von Wachsfäden auch bei der oberirdisch lebenden Form dieses Schädlings noch nachweisbar. Dieser Verlust der Wachsfäden dürfte mit der Gewohnheit der Gallenlaus, im Herbste in den Boden zurückzuwandern, in ursächlichem Zusammenhang stehen.

Schließlich wird noch auf zwei Beobachtungen hingewiesen, laut welchen der Körper von Rhopalosiphum nymphaeae und Rh. najadum auch mit Wachs bestaubt ist, welches wahrscheinlich auch zur Verhinderung einer Benetzung dienen soll, die bei Ueberspülung der Seerose oder des Laichkrautes durch Wasser eintreten könnte.

Die besprochenen Beobachtungen sollen im Laufe des nächsten Sommers vervollständigt und danach ausführlicher mitgeteilt werden. Pósch (Grinád).

Wahl, Bruno, Eine merkwürdige Blattlaus auf Ahornbäumen (Chaitophorus testudinatus Thornton). (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1904. p. 793.)

Unter den auf Ahornbäumen vorkommenden verschiedenen Arten von Blattläusen ist öfters eine Form zu finden, die durch ihr absonderliches Aussehen den Laien schwankend machen kann, ob er es hierbei überhaupt mit einer Blattlaus zu tun hat. Dieses Tier ist annähernd eiförmig, nicht ganz 1 mm lang und gut $^1/_2$ mm breit, ist von grüner Färbung, mit rötlich-braunen Augen und besitzt fünfgliedrige Fühler. Sein charakteristisches Aussehen bekommt es durch eine Anzahl Schüppchen, welche in völlig regelmäßiger Anordnung am Seitenrande des zweiten und dritten Brustsegmentes, am Seiten- und Hinterrande des Hinterleibes, am Stirnrande, an den Basalgliedern der Fühler und schließlich am Außenrande der Schienen und Fußglieder der beiden vorderen Beinpaare stehen, während das dritte Beinpaar bei den vom Verf. beobachteten Exemplaren mit kräftigen Borsten ausgerüstet ist. Auf der Rückseite des Hinterleibes ist eine auffallende mosaikartige Felderung zu bemerken, die an den Panzer der Schildkröten erinnert. Diese merkwürdige Lausform wurde von verschiedenen Forschern beschrieben und zuletzt von Kessler eingehend studiert, welcher sie als eine eigene Art zur Gattung Chaitophorus rechnete und Ch. testudinatus benannte. Diese mit den Schüppchen ausgezeichneten Individuen (Phyllophorus-Stadium) werden im Mai und Juni sowohl aus geflügelten als aus ungeflügelten Tierformen geboren, bleiben bis in den September in diesem Entwickelungszustande, häuten sich sodann, verlieren hierbei die Schüppchenanhänge und gebären nun Junge, die zu geflügelten Männchen und ungeflügelten Weibchen heranwachsen. Diese geschlechtsreifen Tiere haben 7-gliedrige Fühler. Sie legen ihre Eier in Vertiefungen der Zweige ab, aus denen sich die Urtiere entwickeln. Letztere gebären dann im

Frühjahre geflügelte und ungeflügelte Junge, die an die sich eben entfaltenden jungen Blätter auswandern und wiederum jene mit Schüppchen versehenen Individuen zeugen. Diese Schüppchen sind ähnlich wie ein Insektenflügel gerippt, sind als umgewandelte Borstenhaare zu erklären und finden sich nur bei diesem einen Entwickelungsstadium, während die anderen Stadien alle nur mit normalen Borstenhaaren ausgestattet sind. Die von Kessler gegebene Zeichnung über das Phyllophorus-Stadium stimmt mit den Beobachtungen Packards und des Verf. nicht überein, so daß es fast fraglich erscheint, ob Kessler dieselben Blattläuse vor sich gehabt hat, wie die anderen Autoren.

Die Schädigung des Ahorns durch diesen, in den forst- und landwirtschaftlich-zoologischen Büchern nicht beschriebenen Parasiten ist die gleiche, wie sie auf Bäumen überhaupt durch die Blattläuse hervorgerufen wird. Zur Bekämpfung vermögen schon Spritzungen mit frischem Wasser bei fleißiger Wiederholung einer allzustarken Vermehrung der Tiere entgegenzuwirken, das beste Gegenmittel aber sind Spritzungen mit Tabakextraktlösungen (1-proz.) oder mit Petroleumemulsion, wobei die Unterseite der Blätter möglichst gleichmäßig benetzt werden soll, daher die Spritze die Flüssigkeit sehr fein zerstäuben muß.

Stift (Wien).

Perényi, J., Schadet der Ohrwurm der Weinrebe oder nicht? (Borászati Lapok = Ungarischer Weinbau. No. 43. Budapest 1904.)

Indem Verf. in erster Linie darauf hinweist, daß der Ohrwurm (Forficula auricularis L.) abends nicht schwärme, und diese Ansicht durch langjährige Erfahrungen unterstützt, wird weiterhin das Insekt nicht als Pflanzenfresser, wie dies bis jetzt der Fall gewesen sein soll, sondern als Insektenfresser hingestellt. Beobachtungen erwiesen, daß sich die Insekten zwar gerne auf Früchte begeben, jedoch nur darum, um die dort vorhandenen kleinen Fliegen, Larven etc. abzufangen und zu vertilgen. Bei Untersuchung der Verdauungsorgane wurden auch nur Insektenteile gefunden. Auf den oberirdischen Teilen der Weinrebe konnte der angebliche Schädling nicht bemerkt werden, weshalb es wahrscheinlich erscheint, daß sich derselbe nur von den an den Tauwurzeln vorkommenden verschiedenen Käferlarven ernährt, folglich eine Schädigung der Rebe nicht nachweisbar ist.

Pósch (Grinád).

Perényi, J., Die Biene und die Weinrebe. (Borászati Lapok = Ungarischer Weinbau. No. 45. Budapest 1904.)

Bezüglich der Schädigung der Weinreibe durch Bienen, teilen sich die Ansichten der Produzenten, da einerseits auf deren Nützlichkeit im Dienste der Befruchtung, andererseits aber auf bedeutendere Schäden, die durch das Eindringen der Saugorgane in die Beeren entstehen sollen, hingewiesen wird. Verf. gelangte durch Zergliederung der Mundorgane von Bienen und Wespen, als auch durch diesbezüglich durchgeführte Versuche zu der Ueberzeugung, daß die Biene in unbeschädigte Beeren mittels keiner ihrer Organe eindringen kann, während die Wespe mittels ihren Nagewerkzeugen Verletzungen an der Oberfläche der Beeren hervorbringt, wo sich dann natürlich auch die Bienen einfinden. Es erscheint demnach hauptsächlich eine Bekämpfung der Wespen und Vertreibung der Vögel als notwendig. Pósch (Grinád).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Lüstner, G., Zur Tachina-Krankheit der Springwürmer. (Bericht der königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1903. p. 186—187.)

Zschooke stellte fest, daß die in den einzelnen Gemarkungen der Pfalz häufig auftretenden Springwürmer bis zu 90 Proz. von den Larven verschiedener Raupenfliegenarten (Tachinen) bewohnt waren; die Beobachtung erstreckte sich hauptsächlich auf Gebiete, in welchen neben dem Weinbau auch ausgedehnter Obstbbau betrieben wurde. Bei Untersuchung der zur Bekämpfung der Raupen des Apfelwicklers aufgestellten Fangvorrichtungen wurden nun vom Verf. oft Tönnchen einer Tachina-Art unter der Holzwolle aufgefunden, welche nur solchen Raupenfliegen angehören können, deren Larven ihre Entwickelung in den Raupen des Apfelwicklers durchmachen. Diese Puppen haben mit der von Zschooke aus Springwürmern gezüchteten Art große Aehnlichkeit und liegt die Annahme nahe, daß Apfelwickler und Springwurmwickler dieselbe Tachina-Art beherbergen, wodurch auch die oben erwähnte Beobachtung Zschokkes begründet wäre. Pósch (Grinád).

Hotter, E., Versuch über die Reinigung des Roggens vom Mutterkorn. (Bericht über die Tätigkeit der landwirtschaftlich-chemischen Landes-Versuchs- und Samenkontrollstation in Graz im Jahre 1903. p. 15–16.)

Als Ergebnis dieses Versuches läßt sich mit Bestimmtheit anführen, daß das Mutterkorn selbst mit Hilfe der vollkommensten Putzmaschinen sich aus dem Roggen nicht vollständig entfernen läßt, der Gehalt an Mutterkorn kann jedoch bis zu der Grenze von 0,02 bis 0,04 Proz. herabgedrückt werden. Pósch (Grinád).

Hotter, E., Mitteilung über die Mittel „Soufré Précepité Schloesing Sulfate und „Bouillie Bordelaise Schloesing“. (Bericht über die Tätigkeit der landwirtschaftlich-chemischen Landes-Versuchs- und Samenkontrollstation in Graz im Jahre 1903. p. 11—13.)

Es wurde eine Untersuchung des ersteren Mittels, welches sowohl gegen Pilzkrankheiten als auch zur Vernichtung verschiedener schädlicher Insekten verwendet werden soll, vorgenommen und ergab sich als Resultat, daß das mit großer Reklame angepriesene Pulver nichts anderes, als die von Cyanverbindungen befreite, gebrauchte Gasreinigungsmasse, die Lamingsche Masse sei und hat somit selber folgende Zusammensetzung: Freier präzipitierter Schwefel 28,5 Proz., Kalk 12,5 Proz., Eisenoxyd 12,5 Proz., Schwefelsäure 14,0 Proz., Kieselsäure und Sand 6,0 Proz., organische Substanzen 20,0 Proz., Schwefelwasserstoff und Schwefelverbindungen 0,9 Proz. Der Preis des Präparates stellt sich zu hoch; es wird für ein 1 kg Schwefel doppelt soviel als für fein gemahlenes Schwefelpulver gezahlt.

Das Pulver „Bouillie Bordelaise Schloesing“ enthält nach durchgeführter Analyse 68,3 Proz. Kupfervitriol, 27,28 Proz. wasserfreie Pottasche und 4,42 Proz. Wasser; der Preis desselben entspricht den darin enthaltenen Stoffen ebenfalls nicht. Pósch (Grinád).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines.

Busch und **Marpmann, G.**, Ueber einige Fortschritte in der Bakteriologie. (Ztschr. f. angew. Mikrosk. Bd. X. 1904. Heft 8. p. 197—207.)

Freudenreich, Ed. v., Das bakteriologische Laboratorium der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten auf dem Liebefeld bei Bern. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 19/20. p. 631—640. 9 Fig.)

Kausch, Die Abteilung für Bakteriologie und experimentelle Therapie der deutschen medizinischen Ausstellung auf der Weltausstellung zu St. Louis 1904. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. 1904. N. 19/21. p. 593—613. 5 Fig.)

Macé, E., Traité pratique de Bactériologie. 5 édition, mise au courant des travaux les plus récents. Paris 1904. VIII, 1295 p. 8°. 361 Fig.

Technisch-chemisches Jahrbuch 1902. Ein Bericht über die Fortschritte auf dem Gebiete der chemischen Technologie. Hrsg. v. Rudolf Biedermann. Jg. XXV. Braunschweig 1904. (enth. u. a. Gärungsgewerbe, Nahrungsmittel).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Auerbach, N., Ein neuer Pasteurisierungsapparat für Großbetrieb. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XL. 1904. Heft 1/3. p. 174—176. 1 Fig.)

Die Anwendung von flüssigen Kulturen von Säureerregern. (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 48. p. 760—761.)

Kisskalt, Eine neue Methode zur Bestimmung der sichtbaren Verunreinigung von Fluß- und Abwasser. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 21. p. 1036—1038.

Köhler, August, Mikrophotographische Untersuchungen mit ultra-violettem Licht. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI. 1904. Heft 2. p. 129—165.)

Kappers, C. A. Ariëns, Ein kleiner Apparat für die Gesamtbehandlung vieler Objektträger. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI. 1904. Heft 2. p. 185—188. 1 Fig.)

Steinbrück, H., Ein neues transportables Trichinenmikroskop. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1904. Heft 3. p. 86—88. 2 Fig.)

Tricomi-Allegra, Giuseppe, Tre metodi pratici per ritrovare facilmente al microscopio un punto qualunque di un preparato. (Atti Accad. Peloritana. Vol. XIX. 1904. Fasc. 1.)

Tusson, J. und **Herrmann, M.**, Objekttisch mit Meßvorrichtung (Schlittenmeßtisch). (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI. 1904. Heft 2. p. 189—199. 4 Fig.)

van Walsem, G. C., Der Mikro-Pantograph als Zeichenapparat. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. XXI. 1904. Heft 2. p. 166—172. 2 Fig.)

Systematik, Morphologie.

A sheep parasite. Serious loss in animals and wool. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 10. p. 977.)

Baker, Carl F., A revision of American Siphonaptera, or fleas, together with a complete list and bibliography of the group. Smithsonian Institution U. S. Nat. Mus. Proc. of the U. S. Nat. Mus. Vol. XXVII. 1904. p. 365—469. 17 Taf.)

Baur, Erwin, Myxobakterien-Studien. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. V. 1904. Heft 1. p. 92—121.)

Bosc, F. J., Recherches sur la structure et l'appareil nucléaire des Trypanosomes (à propos d'un trypanosome observé chez le lapin). Arch. f. Protistenkunde. Bd. V. 1904. Heft 1. p. 40—77. 68 Fig.)

Brumpt, E., A propos de la Glossina Decorsei Brumpt. (Compt. rend. soc. biol. T. LVII. 1904. N. 32. p. 430—432.)

Castellani, A. and **Willey, A.**, Haematozoa of Vertebrates in Ceylon. (Spolia Zeylanica. Part 6 (Vol. II, Part 2) 1904. 1 Taf.)

Einecke, A., Neue Ansichten über stickstoffsammelnde Bakterien, die Brache und den Raubbau. (Illustr. Landwirtsch. Ztg. Jg. XXIV. 1904. N. 93. p. 1071—1072.)

Endlich, Rud., Die Einschleppungsgefahr des Baumwollrüsselkäfers. (Tropenpflanzer. Jg. VIII. 1904. N. 12. p. 655—666. 6 Fig.)

Feuereissen, W., Echinokokken im Körper eines Rückenwirbels beim Rinde. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1904. Heft 3. p. 86—87.)

Fuhrmann, O., Die Tetrabothrien der Säugetiere. (Centralbl. f. Parasitenk. 1904. 9 p. 6 Fig. 1 M.

Goldschmidt, Richard, Ueber die Cuticula von Ascaris. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1904. N. 7. p. 259—266.)

Guéguen, F., Les Champignons parasites de l'homme et des animaux. Paris 1904. XV, 280 p. 12 Taf.

Heinricher, E., Melampyrum pratense L., ein in gewissen Grenzen spezialisierter Parasit. [Vorl. Mitt.] (Ber. d. Dtschn. botan. Ges. Bd. XXII. 1904. Heft 8. p. 411—414.)

Henneberg, W., Untersuchungen an ruhenden Kulturhefen im feuchten und abgepreßten Zustand. Ein Beitrag zur Kenntnis des Verhaltens, der Lebensdauer der Hefezellen, der Einwirkung fremder Organismen auf diese, sowie zur Kenntnis der spontanen Infektion, des Verderbens und der Fäulnis der Büchsenhefen. [Schluß.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXI. 1904. N. 48. p. 759—763.)

Hickman, Richard W., Scabies in cattle. (U. S. Depart. of agric. Farmers Bull. 1904. N. 152. 32 p. 8°. 16 Fig.)

von Janicki, C., Ueber Säugetiercestoden. Nachtrag und Berichtigung zu der Mitteilung in N. 25 dieser Zeitschrift. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1904. N. 7. p. 230—231.)

Koch, Alfred, Bodenbakteriologische Forschungen und ihre praktische Bedeutung. [Vortrag.] Leipzig (Schmidt u. Co.) 1904. 20 p. 8°. —,60 M.

Leon, N., Note sur la fréquence des Botriocéphales en Roumanie. Bull. Soc. Sc. Bucarest 1904. 2 p. 4°. —,50 M.

von Linstow, Ueber eine neue Art der Copula bei Distomen. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1904. N. 7. p. 252—254. 4 Fig.)

Lounsbury, C. P., External parasites of fowls. (Agric. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXV. 1904. N. 5. p. 548—552. 4 Fig.)

Muto, T., Ein eigentümlicher Bacillus, welcher sich schneckenartig bewegende Kolonieen bildet (B. helixoides). (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 3. p. 321—325. 1 Taf.)

Neubauer, Ueber anaërobe Bakterien im Rinderdarm. (Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXXI. 1905. Heft 1/2. p. 153—176.)

Schneider, Otto, Versuche mit schweizerischen Weidenmelampsoren. [Vorl. Mitt.) (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 5/7. p. 222—224.)

Schulte, Fritz, Zur Anatomie der Flechtengattung Usnea. (Beihefte z. bot. Centralbl. Bd. XVIII. Abt. II. 1904. Heft 1. p. 1—22. 3 Taf. u. 8 Fig.)

Selter, Ueber Sporenbildung bei Milzbrand und anderen sporenbildenden Bakterien. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 3. p. 381—389.)

Smith, R. Greig, The bacterial origin of the gums os the Arabin group. 11. The nutrition of Bacterium acaciae. (Proc. of the Linnean soc. of New South Wales for the year 1904. P. 2. p. 217—253. 2 Taf.)

Smith, Th. and **Johnson, H. P.,** On a Coccidium (klossiella muris, n. gen. et sp.) Parasitic in the renal epithelium of the mouse. (Journ. experiment. med. Baltimore. Vol. VI. 1904. p. 303—316.)

Stenta, M., Thynnicola Ziegleri Miculicich = Brachiella thynni Cuv. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1904. N. 8/9. p. 345—347.)

Sydow, P. et **H.,** Monographia Uredinarum seu specierum omnium ad hunc usque diem descriptio ed adumbratio systematica. Vol. I. Genus Puccinia. Leipzig (Bornträger) 1904. XXXV, 972 p. 45 Taf. 75 M.

Wilhelmi, Julius, Ueber die Exkretionsorgane der Süßwassertricladen. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1904. N. 70. p. 268—272.)

Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. 6. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 18. p. 545—552.)

—, Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. VI. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 49. p. 861—866. 7 Fig.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

Bandi, Walter, Beiträge zur Biologie der Uredineen (Phragmidium subcorticium (Schrank) Winter. Puccinia caricis montanae Ed. Fischer. Diss. phil. Bern 1903/1904. 36 p. 8°.

Baur, Erwin, Zur Aetiologie der infektiösen Panachierung. (Ber. d. Dtschen botan. Ges. Bd. XXII. 1904. Heft 8. p. 453—460.)

Bohtz, Hans, Untersuchung über die Einwirkungen von Metallpulvern auf Bakterien. Diss. med.-veter. Giessen 1904. 8°.

Bourquelot, Em. et **Herissey, H.,** Sur la tréhalase, sa présence générale dans les champignons. (Compt. rend. soc. biol. T. LVII. 1904. N. 32. p. 409—412.)

Eijkman, C., Ueber thermolabile Stoffwechselprodukte als Ursache der natürlichen Wachstumshemmung der Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. N. 3. p. 436—449.)

Eriksson, J., Ueber das vegetative Leben der Getreiderostpilze: 2—3. Puccinia dispersa Eriks. in der heranwachsenden Roggenpflanze; Puccinia glumarum (Schm.) Eriks. et Hen. in der heranwachsenden Gartenpflanze. Vet.-Akad. Handl. Stockholm 1904. 18 S. 8°. 3 Taf. 2,50 M.

Fischer, H., Die Bedeutung der Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophytischen Streptokokken. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 3. p. 418—426.)

Kostytschew, S., Untersuchungen über die Atmung und alkoholische Gärung der Mucoraceen. [Schluß.] Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 19/20. p. 577—589.)

Krasnosselsky, T., Atmung und Gärung der Schimmelpilze in Rollkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 22/23. p. 673—687. 6 Fig.)

Löhnis, F., Ueber Nitrifikation und Denitrifikation in der Ackererde. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 22/23. p. 706—715.)

Pfeiffer, Th., Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau. (Mitt. d. landw. Inst. d. k. Univ. Breslau. Bd. III. 1904. Heft 1. p. 93—145.)

Stoklasa, Julius, Ueber das Enzym Laktolase, welches die Milchsäurebildung in der Pflanzenzelle verursacht. (Ber. d. Dtschn. botan. Ges. Bd. XXII. 1904. Heft 8. p. 460—466.)

Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. 6. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden. [Schluß.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1904. N. 50. p. 882—884. 2 Taf.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Koch, Arthur Alexander, Beitrag zur Bestimmung des Fluors in Wein, Bier und Mineralien. Diss. phil. Basel 1904. 54 p. 8°.

Luft, Wasser, Boden.

Bonjean, Edmond, Filtration et stérilisation des eaux d'alimentation humaine. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. XI. 1904. p. 541—544.)

Emmerich, R., Ueber die Beurteilung des Wassers vom bakteriologischen Standpunkte. (Journ. f. Gasbeleucht. u. Wasserversorg. Jg. XLVII. 1904. N. 50. p. 1110—1113.)

Haerle, Oskar, Die Mineralquellen des Elsaß in bakteriologischer und chemischer Beziehung. (Erste bakteriologische, neueste chemische Untersuchung.) Straßburg i. E. 1904. 110 p. 6 Fig. 4,60 M.

Hueppe, Ferdinand, Ueber Trinkwassertheorie und Wasserbeurteilung. (Blätt. f. Volksgesundheitspflege. Jg. IV, 1904. Heft 22. p. 337—345.)

König, J., Der gegenwärtige Stand der Beurteilung von Trink- und Abwasser nach der chemischen Methode. (Journ. f. Gasbeleucht. u. Wasserversorg. Jg. XLVII. 1904. N. 49. p. 1084—1090.)

Le Méhauté, P., L'eau potable à bord. Captation et distribution de l'eau potable. Eau distillée et eau stérilisée. [Fin.] (Arch. de méd. navale. T. II. 1904. N. 10. p. 253—273. 3 Fig.)

Nicolaus, Erwin, Selbstreinigung der Flüsse. (Gesundheit. Jg. XXIX. 1904. N. 23. p. 787—801.)

Fleisch.

Deichstetter und **Emmerich, R.**, Erwiderung auf den Bericht des Herrn Prof. Ostertag über die Erfahrungen mit dem Emmerichschen Fleischkonservierungsverfahren. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1904. Heft 3. p. 74—77.)

Kobs, F., Die Tuberkulose unter den Tieren. (Rundschau a. d. Geb. d. Fleischbeschau. Jg. V. 1904. N. 23. p. 421—423.)

Marxer, Anton, Beitrag zur Frage des Bakteriengehaltes und der Haltbarkeit des Fleisches bei gewöhnlicher Aufbewahrung. Diss. vet.-med. Bern 1903/04. 46 p. 8°.

Matschke, Ueber die bei Durchführung des Schlachtvieh- und Fleischbeschaugesetzes gemachten Erfahrungen. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1904. Heft 3. p. 77—81.)

Taschenkalender für Fleischbeschauer und Trichinenschauer. Jg. V. 1905. Unter Mitwirkg. v. M. Schlegel u. R. Froehner, hrsg. v. A. Johne. Berlin (Parey) XII p. 8°. 2,25 M.

Milch, Molkerei.

Aigre, D., La „goutte de lait" et les „consultations de nourrissons" de Boulogne-sur-mer. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. II. 1904. p. 476—483.)

Barthel, Chr. und **Stenström, O.**, Weitere Beiträge zur Frage des Einflusses hoher

Temperaturen auf Tuberkelbacillen in der Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 3. p. 459—463.)

Fascetti, Versuche mit der Herstellung von Käsen aus pasteurisierter Milch. (Milch-Ztg. Jg. XXXIII. 1904. N. 49. p. 774.)

Gordan, P., Eignet sich Wasserstoffsuperoxyd zum Sterilisieren der Milch? (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 22/23. p. 716—728.)

Hesse, A., Konservierung der Milchproben für die Untersuchung, insbesondere durch Formalin. (Molkerei-Ztg. Jg. XIV. 1904. N. 50. p. 589—591.)

Jensen, Orla, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse, nebst Beiträgen zur Biologie des Käsefermentes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 19/20. p. 604—615; N. 22/23. p. 687—705.)

Massanek, Gábor von, Ueber Buttermilch. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LX. Folge 3. Bd. X. 1904. Heft 5. p. 756—775. 2 Taf.)

Newton Richard Cole, The initial contamination of milk. (Journ. American med. assoc. Vol. XLIII. 1904. N. 19. p. 1387—1393.)

Raffay, O. v., Der Käse der Brie. Brie de Meaux, Coulommiers, Brie de Melun. Wien (Fromme) 1904. 8°. 31 p. 2 Fig. —,50 M.

Rodella, Antonio, Ueber die in der normalen Milch vorkommenden Anaërobien und ihre Beziehungen zum Käsereifungsprozesse. [5. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 19/20. p. 589—604.)

Rogers, Lore A., The relation of bacteria to the flavors of cheddar cheek. (U. S. Depart. of agric. Bureau of animal industry. Bull. 1904. N. 62. 37 p. 8°.)

Smidt, H., Ueber die Fähigkeit der Milch, Methylenblau zu reduzieren. (Hyg. Rundsch. Jg. XIV. 1904. N. 23. p. 1137—1143.)

Stoklasa, Julius, Ueber die Isolierung gärungserregender Enzyme aus Kuhmilch. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswes. in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 11. p. 755—774. 1 Fig.)

Teichert, Curt, Bakteriologisch-chemische Studien über die Butter in der Provinz Posen, mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkelbacillen. Thèse sc. Lausanne. 1904. 80 p. 8°.

Bier, Brauerei.

Fürnrohr, Oskar, Infektion durch die Filtermasse. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVII. 1903. N. 50. p. 879—881.)

Ost, H., Die Isomaltose. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXXII. 1904. N. 49. p. 597—598.)

Will, H. und **Braun, R.,** Vergleichende Untersuchungen einiger in den letzten Jahren für den Brauereibetrieb empfohlenen Desinfektionsmittel. [2. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 18. p. 552—554. [Autoreferat].)

Wein, Weinbereitung.

Delle, Ed., Les vins mannités. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 94. p. 374.)

Piot, R., Altération de la couleur des vins blancs. (Moniteur vinicole. (Année XLIX. 1904. N. 93. p. 370.)

Andere Nahrungsmittel.

Mosny, E., La nocivité des huîtres et l'insalubrité des établissements ostréicoles. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. II. 1904. p. 459—476.)

Ouspensky, Constantin, Résistance des microbes dans quelques produits alimentaires à base de sucre. Thèse méd. Genève. 1904. 28 p. 8°.

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Barwise, S., The purification of sewage. 2 edit. London (Lockwood & S.) 1904. Mit Ill. 12 M.

Baudran, G., Action des eaux résiduelles de distillerie sur le cresson. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. II. 1904. p. 532—541.)

Christek, W., Antimiasmatikum. Ein neues Desinfektionsmittel für Spiritusbrennereien. (Oesterr. Landwirtsch. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 47. p. 971.)

Claudot et **Niclot,** Recherches sur le flambage, son action microbicide et son utilisation en chirurgie et en hygiène. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. II. 1904. p. 446—458.)

Ferrari, Pietro, Il servizio municipale di disinfezione in Milano. [Contin.] (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVI. 1904. N. 10. p. 465—484. 13 Fig.)

Galli, E. und **Ceradini, A.,** Il Lysoform. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVI. 1904. N. 10. p. 457—465.)

Meitner, Wilhelm, Ueber Antiputrol, ein neues Desinfektionsmittel aus der Reihe der

kreosothaltigen Gemische. Leipzig (Konegen) 1904. 5 p. 8°. (Aus: D. Frauenarzt.) 1 M.

Severin, S. A., Die im Miste vorkommenden Bakterien und deren physiologische Rolle bei der Zersetzung desselben. [5. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 19/20. p. 616—631.)

Seaver, T. W., Some notes on the biological process of the treatment of sewage. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 10. p. 963—966.)

Uebelmesser, H., Die Desinfektionskraft des käuflichen Liquor creosoli saponatus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 3. p. 469—478.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

A fruit fly enemy. (Natal Agric. Journ. a. mining Record. Vol. VII. 1904. N. 10. p. 987—991.)

A. S., Der Brand der Obstbäume. (Schweizer. Landwirtsch. Ztschr. Jg. XXXII. 1904. Heft 45. p. 1060—1061.)

Bemis, Florence E., The Aleyrodids, or mealy-winged flies, or California, with references to other American species. Smithsonian Instit. U. S. Nat. Mus. (Proc. of the U. S. Nat. Mus. Vol. XXVII. 1904. p. 471—537. 10 Taf.)

Berlese, Antonio, Sopra una nuova specie di Cocciniglia (Mytilaspis ficifolii) che attaca le foglie del fico. (Atti d. R. istit. d'incoraggiamento di Napoli. Ser. 5. Vol. V. 1904. N. 12. 5 p. 1 Taf.)

Black-scab of potatoes. Oedomyces leproides Trabut = Chrysophlyctis endobiotica Schilb. Board of Agric. and Fisheries. Leaflet 107. 1904. 4 p. 8°. 2 Fig.

Bubák, Fr., In Böhmen im Jahre 1902 aufgetretene Pflanzenkrankheiten. (Ztschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 11. p. 731—741.)

Bussen, Ein gefährlicher Feind der Erbse. (Dtsche. landw. Ztg. Jg. XLVII. 1904. N. 46. p. 270.)

Carleton, Mack Alfred, Investigations of rusts. U. S. Depart. of agric. Bureau of plant industry. Bull. N. 63. 1904. 29 p. 8°. 1 Taf.

Cobb, N. A., Parasites as an aid in determining organic relationship. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 9. p. 845—848.)

Cook, O. F., Report on the habits of the kelep, or Guatemalan cotton-boll-weevil ant. U. S. Depart. of agric. Bureau of entomology. Bull. N. 49. 1904. 15 p. 8°.

Cotton insects and fungus blights. (Natal Agric. Journ. a. mining Record. Vol. VII. 1904. N. 10. p. 931—944. 16 Fig.)

Craw, Alexander, South African black-scale parasite (Scutellista cyanea). (Journ. of Agric. of Western Australia. Vol. X. 1904. P. 3. p. 186—187.)

Cut worms. (Natal Agric. Journ. a. mining Record. Vol. VII. 1904. N. 9. p. 829.)

Disappearance of the Tsetse Fly. (Natal Agric. Journ. a. mining Record. Vol. VII. 1904. N. 10. p. 928—929.)

Dry Rot (Merulius lacrymans Fries). Board of Agric. and Fisheries. Leaflet N. 113. 1904. 4 p. 8°. 1 Fig.

Faes, H., Pucerons du pommier. (Chronique agricole du Canton de Vaud. Année XVII. 1904. N. 22. p. 608—609.)

Hooper, T., Black-scale and fruit fly parasites. (Journ. of Agric. of Western Australia. Vol. X. 1904. P. 3. p. 172—173.)

Hopkins, A. D., Catalogue of exhibits of insect enemies of forests and forest products at the Louisiana purchase exposition. St. Louis Mo. 1904. 56 p. (U. S. Depart. of agric. Division of entomology. Bull. N. 48. 22 Taf.)

Knoche, E., Beiträge zur Generationsfrage der Borkenkäfer. [Schluß.] (Forstwissensch. Centralbl. Jg. XXVI. 1904. Heft 11. p. 606—621.)

Koenig, Ch., La vigne e le phylloxera en Alsace. Rixheim 1904. 15 p. 8°. (Revue d'Alsace). —,20 M.

Lindroth, J., Ivar, Die Blasenfüße. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. II. 1904. Heft 10. p. 131—135. 1 Fig.)

Lounsbury, C. P., The Codling Math. Notes on the life cycle and remedies. (Agric. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXV. 1904. N. 4. p. 401—406.)

—, Gall worms in roots of plants. An important potato pest. (Agric. Journ. of Cape of Good Hope. Vol. XXV. 1904. N. 4. p. 406—412. 4 Fig.)

—, Fumigation for scale Insects. (Agric. Journ. of Cape of Good Hope. Vol. XXV. 1904. N. 4. p. 432—435. 1 Fig.)

Nüsslin, Otto, Leitfaden der Forstinsektenkunde. Mit 356 Fig. u. den Bildnissen hervorragender Forstentomologen. Berlin (Parey) 1905. XVI, 454 p. 8°. —,10 M.

The Mussel Scale (Mytilaspis pomorum Bouché). Board of Agric. and Fisheries. Leaflet N. 107. 1904. 4 p. 8°. 2 Fig.

Wahl, Bruno, Die Rübenmüdigkeit und ihr Erreger, das Rübenälchen (Heterodera Schachtii A. S.) (Oesterr. Landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 45. p. 355—356.)

Weir, R. E., Diseases of stock. (Journ. of Agric. of Western Australia. Vol. X. 1904. P. 3. p. 167—172.)

Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

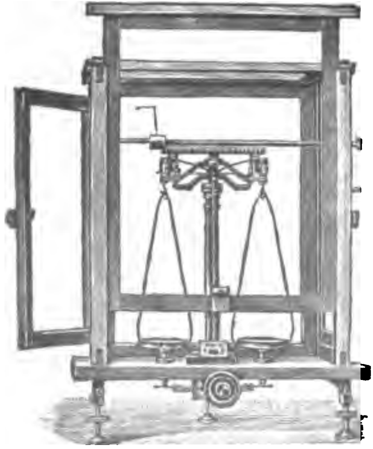
Köck, G., Chemische und mechanische Mittel bei Bekämpfung landwirtschaftlicher Schädlinge. (Oesterr. Landwirtsch. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 46. p. 363—364.)

Powdered Bordeaux mixture. (Journ. of Agric. of Western Australia. Vol. X. 1904. P. 3. p. 199—202.)

The destruction of field-mice by the Loeffler bacillus. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XV. 1904. P. 10. p. 937.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.



Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 3|4.

The effect of some food preservatives on the action of digestive enzymes [1]).

[Contribution from the Biochemic Division, Bureau of Animal Industry, U. S. Dept. Agriculture.]

By **T. M. Price**, Ph. D. Washington D. C.

The study of the influence of preservatives upon the digestive enzymes was undertaken with the object of determining the minimum amount of formaldehyde, boric acid, borax and salicylic acid required to preserve milk for 48 hours, the effect of the several preservatives upon the digestibility of the milk being subsequently determined by feeding the treated milk to calves. A number of experiments were also carried on to determine the minimum amount of formaldehyde that could be added to milk without affecting the action of certain animal enzymes in vitro; and in addition the effect of formaldehyde upon some of the more common bacteria was studied.

Milk was chosen for the majority of these experiments because milk is of all necessary food stuffs the one which most readily undergoes decomposition and when it has undergone decomposition of one kind or another, is capable of producing extremely injurious effects, because of the very common use of preservatives in milk, and finally because milk is the food stuff in which any injurious effects of a preservative would be most mischievous since it is consumed in large quantities by young children. Milk then, may be said to be the food to which the addition of a preservative would be most advantageous if that preservative was not injurious, when on the other hand, if the preservative was injurious, milk is the food to which such an addition would be most harmful.

The work with animals was started in 1900 and carried through two years at the Maryland Agricultural Experiment Station, with the cooperation of Prof. C. F. Doane. The details of the plans, description of apparatus, etc., may be found in bulletin No. 77 of the Maryland station. Young calves were selected for the experiment as it seemed probable that they would be more susceptible to the influence of the preservative than any other animal available. In using calves for this work it was of course with a full appreciation of the fact that they might not be so sensitive in all respects as man, and also with a full understanding that there was a wide difference in some respects in their digestive organs as compared to man's. It was assumed that a preservative which would prove to be harmful or which would make milk less digestible when fed to a calf, would certainly be unfit for use in connection with human beings, and particularly infants. Again it was also considered at the outset that in case the preservative showed no effect upon the calf's digestive organs it would not necessarily prove

1) Abstract of work done at the Maryland Agricultural Experiment Station and in the Biochemic Division, Bureau of Animal Industry.

that the said preservative could be added to milk to be used by children without causing harm, yet such a conclusion would certainly seem reasonable. There is, however, another side to the question which I consider as being equal in importance to the character of the digestive tract. The calves could be fed preserved milk very young, as a calf can be removed from its mother a few days after birth and raised by hand very easily. Moreover young calves are not what would be termed hardy animals as they are especially susceptible to anything wrong with the food given them. It takes very little irregularity in the food to disturb their digestion, and as cow's milk was to be used in the experiments it seemed that the calves would, considering everything, be as likely to show effect from the preserved milk as any other animal. The experiments were commenced when the calves were about two weeks old. The work was carried on at two different times, first in the winter of 1900—1901, when the milk was fed immediately after it was treated with the preservative, and secondly in the winter of 1901—1902, when the feeding was done after the milk had stood twenty-four hours in contact with the preservative in a comparatively warm room, the second series of experiments being undertaken in order to eliminate any possibility that the prolonged action of the preservative might have some influence on the digestibility of the milk. In practice, preservatives are of course added to the milk some time before it reaches the consumer.

The milk fed the calves was taken from the same cow throughout the entire period. This was thought to be better than taking it from the entire herd, as milk from different cows differs often in digestibility and taking the milk from one cow obviated this possible error.

The general plan of this work was to feed the calves during a preliminary period of six days and then a regular period of three days, the analysis of the food given being made during the entire period while the undigested material was analyzed only during the three days of the regular period. Eight different animals were fed both with treated and untreated milk, and to make the test as fair as possible some calves were fed first with one kind of preservative, some with another, and others with untreated milk. About the quantity of milk required to keep the animal in a growing condition was fed, the amount being the same for all calves. The amount of preservatives added was in all cases the same, being with the exception of formaldehyde the minimum amount found necessary to keep the milk for 48 hours, viz., borax, 1 part: milk, 675 parts. Boric acid, 1 part: milk, 1000 parts: Salicylic acid, 1 part: milk, 1000 parts and formaldehyde, 1 part: milk, 10000 parts. The amount of formaldehyde added was in excess of the amount that it required, but it was my intention, if this amount had any bad effect, to diminish the proportion added to 1 part formaldehyde: 20000 parts milk, which is the proportion actually required. As events turned out I found it unnecessary to try the smaller quantity.

The difference in the amount of formaldehyde required and the amount used in the experiments gives room, to a certain extent, to the abuse of preservatives which may arise from the fact that the milk may pass through a number of hands before it is consumed. The producer adds some preservative in varying quantity to insure the milk reaching the dealer in good condition. The dealer is uncertain as to the amount of care the milk has had and is entirely ignorant of the

fact that the producer has already used a maximum amount of preservative. So he adds more to insure himself against loss and to save ice. In this way the milk may have a much larger amount of preservative added than is actually required.

As the work of the two years varied in having the preservative added to the milk at different times, and as the calves used were of a different lot, the results with the untreated milk and with each preservative for the two years are given in separate tables.

The following tables summarize the results when the preservative was added just before feeding.

Table I.
Digestibility of whole milk, untreated.

	Protein.	Fat.
Average per cent digested	94,79	96,82

Table II.
Digestibility of whole milk preserved with salicylic acid.

	Protein.	Fat.
Average per cent digested	88,02	93,96
Average for untreated milk	94,79	96,82
Decreased digestibility of milk preserved with salicylic acid	6,77 %	2,86 %

Table III.
Digestibility of whole milk preserved with boric acid.

	Protein.	Fat.
Average per cent digested	93,84	97,16
Average for untreated milk	94,79	96,82
Decreased digestibility of milk preserved with boric acid	0,95 %	—0,34 %

Table IV.
Digestibility of whole milk preserved with formaldehyde.

	Protein.	Fat.
Average per cent digested	95,01	97,75
Average for untreated milk	94,79	96,82
Increased digestibility of milk preserved with formaldehyde	0,22 %	0,93 %

The next work done was taken up the following year when the preservative was added twenty-four hours before it was fed to the calves.

Table V.
Digestibility of whole milk untreated.

	Protein.	Fat.
Average per cent digested	93,52	97,37

Table VI.
Digestibility of whole milk preserved with salicylic acid.

	Protein.	Fat.
Average per cent digested	90,04	92,81
Average for untreated milk	93,52	97,37
Decreased digestibility of milk preserved with salicylic acid	3,48 %	4,56 %

Table VII.
Digestibility of whole milk preserved with boric acid.

	Protein.	Fat.
Average per cent digested	91,00	97,56
Average for untreated milk	93,52	97,37
Decreased digestibility of milk preserved with boric acid	2,52 %	—0,19 %

Table VIII.

Digestibility of whole milk preserved with formaldehyde.

	Protein.	Fat.
Average per cent digested	94,83	98,36
Average for untreated milk	93,52	97,37
Increased digestibility of milk preserved with formaldehyde	1,31 %	0,99 %

Table IX.

Digestibility of whole milk preserved with borax.

	Protein.	Fat.
Average per cent digested	92,22	97,35
Average for untreated milk	93,52	97,37
Decreased digestibility of milk preserved with borax	1,30 %	0,02 %

By comparing the total average of the two years' work we find that 0,76 % more protein and 0,96 % more fat was digested when the milk was preserved with formaldehyde in the proportion of 1 : 10000 than when it was fed without a preservative. When the milk was preserved with salicylic acid there was a difference of 5,07 % of protein and 3,71 % of fat in favor of the untreated milk. When the milk was preserved with boric acid there was a difference of 1,73 % of protein and 0,08 % of fat in favor of the untreated milk. When milk treated with borax was fed there was a difference of 1,30 % of protein and 0,02 of fat in favor of the milk without the preservative. In all the series the comparative results were nearly the same and the results of the two seasons' work were so nearly the same that it would appear that the work was exhaustive. Borax and boric acid in the experiments conducted by others (7) appeared to slightly interfere with digestion while formaldehyde had no deleterious effects.

To determine if preservatives would have any effect if given through a comparatively long period, two calves were fed on milk preserved with boric acid, and two calves with milk preserved with formaldehyde commencing March 4th and continuing the feeding until May 1st. The calves were in perfect health as far as could be seen at the beginning of the trial and the calves fed the milk preserved with formaldehyde continued so throughout the entire time that the feeding was continued. All the calves gained steadily in weight throughout the experiment. The calves receiving the boric acid lost nearly all the hair from their necks and shoulders and it appeared very much as though it was due to the preservative.

Although some of the preservatives showed bad effects, formaldehyde when used, in the proportion of 1 : 10000 apparently did not interfere with the activity of the digestive enzymes as tested on calves.

Experiments in vitro with formaldehyde.

These experiments were made in the Biochemic Division of the Bureau of Animal Industry, to determine what strength solution of formaldehyde was necessary to cause interference with the action of rennet, pepsin, pancreatin, steapsin, ptyalin, amylopsin and galactase in vitro, and at the same time prevent bacterial development. The fresh extract of the various glands obtained directly from healthy animals was used in each case.

Formaline was added to 100 ccm of fresh milk in flasks in the proportions given in Table X, the flasks set aside at room temperature

for 24 hours and samples then taken to test the action of rennet, pepsin and pancreatin. Fresh milk was always used in the control.

Table X.

Flask No.	Fotmaline[1]		Formaldehyde
1	Control		
2	1:20	equivalent to	1:50
3	1:50	„	1:125
4	1:100	„	1:250
5	1:200	„	1:500
6	1:500	„	1:1250
7	1:750	„	1:1875
8	1:1000	„	1:2500
9	1:1500	„	1:3750
10	1:2000	„	1:5000
11	1:3000	„	1:7500
12	1:5000	„	1:12500

Experiments with rennet.

The rennet was obtained from the mucous membrane of a calf's stomach by digesting it for twenty-four hours at room temperature in 200 ccm of a 0,2 % hydrochloric acid solution, filtered and carefully neutralized. 1 ccm of neutralized liquid was added to 10 ccm of milk taken from each flask, put in test tubes and the tubes placed in the incubator at 40°. Table XI contains the results.

Table XI.

Proportions of formaldehyde from flask No.		After 10 min.	Mixtures of milk and formaldehyde tested 24 hours	48 hours
1	Control	Solid in 7 min.	Solid in 7 min.	Solid in 7 min.
2	1:50	Not coag. in 18 hours	Same as before	Same as before
3	1:125	„ „ „ 18 „	„ „ „	„ „ „
4	1:250	„ „ „ 18 „	„ „ „	„ „ „
5	1:500	„ „ „ 18 „	„ „ „	„ „ „
6	1:1250	Solid in 10 min.	Solid in 10 min.	Solid in 10 min.
7	1:1875	„ „ 10 „	„ „ 10 „	„ „ 10 „
8	1:2500	„ „ 7 „	„ „ 7 „	„ „ 7 „
9	1:3750	„ „ 7 „	„ „ 7 „	„ „ 7 „
10	1:5000	„ „ 7 „	„ „ 7 „	„ „ 7 „
11	1:7500	„ „ 7 „	„ „ 7 „	„ „ 7 „
12	1:12500	„ „ 7 „	„ „ 7 „	„ „ 7 „

These results show that formaldehyde added to milk in the proportion of 1:2500 does not interfere with the rennet coagulation, while the proportion of 1:1875 retards the coagulation and the proportion of 1:500 renders the milk incapable of being coagulated in 18 hours.

Experiments with pepsin.

The pepsin used was in the form of artificial gastric juice prepared from the stomach of a pig. The stomach was opened, emptied of the contents and then the surface cleaned with a wet sponge. The mucous membrane was removed from all but the pyloric end of the organ; it was then freed from a portion of the water which was adhering to it, by pressure between dry cloths and minced. The finely divided mucous membrane was then placed in two liters of dilute hydrochloric acid containing 6 ccm of concentrated hydrochloric acid per liter, the mixture digested in the incubator at 40° C for a day. The liquid was then fil-

1) Formaline is the commercial term for the 40 % solution of the gas formaldehyde in water.

tered through paper and 50 ccm added to 200 ccm of a 0,1 % hydrochloric acid solution. 10 ccm of this solution was added to 1 ccm of milk, treated as in Table XII and set aside in incubator at 40° C.

It has been demonstrated by Hammersten and other workers (1) that when milk is subjected to the action of pepsin hydrochloric acid pseudo-nuclein is split off and may be recognized after digesting milk for a short time, it separating but is finally dissolved by prolonged digestion. Any foreign matter that interferes with the formation of pseudo-nuclein, interferes with the digestion of the milk. This feature was taken to determine when the formaldehyde affected the digestibility of the milk. It was found that upon the addition of formaldehyde in the proportion of 1:50 the pepsin digestion was retarded while in a stronger solution or in the proportion of 1:25 the digestion was materially interfered with and in the proportion of 1:125 or less the digestion was normal with the control.

Experiments with pancreatin.

Two hundred grams of finely chopped fresh pancreas free from fat was digested in a liter of water for twenty-four hours, filtered, and the solution made up to twice its volume with a 2 per cent solution of sodium carbonate. 10 ccm of this mixture was added to 1 ccm of milk as in experiment 2, placed in the incubator at 40° and tested every two hours until the control gave no precipitate when saturated with magnesium sulphate, thus showing that all the proteids were in the form of pepton. At the end of 18 hours the control showed the absence of all proteids that were precipitated by magnesium sulphate and the tubes containing formaldehyde in the proportion of 1:2000 or less the same, while in the tubes containing formaldehyde in the proportion of 1:1500 or more the digestion was interfered with.

Experiments with steapsin.

One hundred grams of finely chopped pancreas free from fat, was mixed with one liter of a solution of glycerine containing 900 ccm of glycerine and 100 ccm of a one per cent sodium carbonate solution. This mixture was allowed to stand at room temperature for three days, filtered through linen, and the filtrate used for its fat splitting enzyme. Two ccm of this extract was added to one gram of neutral fat obtained from cream by shaking with alkaline ether and then washing well with water. To this neutral fat solution were added varying proportions of formaldehyde. To the tubes containing one gram of the fat and 2 ccm of the extract, 10 ccm of water were added, the tubes shaken in milk shaker, set aside at 40° and then shaken every half hour for twelve hours at this temperature. Their acidity was then determined using phenolphthalein as indicator. It was found that formaldehyde in the proportion of 1:35 prevented the action of steapsin and in the proportion of 1:50 the action of steapsin was retarded while weaker solutions had no effect on the activity of the enzyme.

The enzymes used in the preceding experiments practically are the ones whose activity if interfered with, would affect the digestibility of milk, but formaldehyde is often used as a preservative for food containing a large amount of starch. The enzymes ptyalin and amylopsin were studied with regard to their activity with starch when the starch was in the presence of varying strength formaldehyde solutions.

Experiments wit ptyalin.

Filtered saliva was used for the ptyalin enzyme. One gram of potato starch, which had been thoroughly washed with dilute hydrochloric acid and caustic potash and then washed well with water, was thoroughly mixed in a mortar with cold water and the thick liquid then poured with constant stirring into boiling water, the boiling being continued about three minutes. Ten ccm of this mixture was treated with varying strenght solutions of formaldehyde as shown in the table below at 40° and tested with iodine solution every two minutes with the following resultats:

Table XII.

No. flask	Am't formaldehyde	Results					
1	Control	Colorless	with iodine	after	10 min.		
2	1:100	Blue	„	„	„	10	„
3	1:200	„	„	„	„	10	„
4	1:500	„	„	„	„	10	„
5	1:750	Nearly colorless	„	„	„	10	„
6	1:1000	„ „	„	„	„	10	„
7	1:1250	„ „	„	„	„	10	„
8	1:1500	Colorless	„	„	„	10	„
9	1:2000	„	„	„	„	10	„
10	1:5000	„	„	„	„	10	„
11	1:10000	„	„	„	„	10	„

The results from these experiments show that the amylolytic action of ptyalin is interfered with only when formaldehyde is added to the starch in the proportion of 1:1250, while in the proportion of 1:1500 or less the ptyalin's activity is normal.

Experiments with amylopsin.

One hundred grams of finely chopped pancreas free from fat was digested five days with an occasional shaking with four hundred grams of 25 per cent alcohol. It was then filtered and 10 ccm added to 100 ccm of starch paste prepared as in experiment 5, with the following results:

Table XIII.

No. flask	Am't formaldehyde	Results					
1	Control	Colorless	with iodine	after	25 min.		
2	1:200	Blue	„	„	„	25	„
3	1:500	„	„	„	„	25	„
4	1:750	Nearly „	„	„	„	25	„
5	1:1000	Colorless	„	„	„	25	„
6	1:1500	„	„	„	„	25	„
7	1:1500	„	„	„	„	25	„
8	1:2000	„	„	„	„	25	„
9	1:5000	„	„	„	„	25	„

These results show that when formaldehyde was added to starch in the proportion of 1:500 it interfered with the action of the amylopsin, while in the proportion of 1:1000 or less it has no marked effect.

Summarizing the results from these experiments *in vitro* we find that formaldehyde may be added to food-stuffs in the proportion of 1:2500 without affecting the activity of any of the enzymes used. However, there is present in milk an active proteolytic enzyme, galactase, discovered by Babcock and Russell (2) and found by them to play an important part in the ripening of cheese. The part this enzyme plays in the digestion of the milk when taken into the system has not as yet been definitely determined. Snyder (3) studied the effect of

the enzymes in milk and claims that when milk was used in a mixed diet the protein was from 4 to 5 per cent more digestible than when the milk was omitted. Snyder (3) also claims that upon digesting toast for two hours with 10 ccm of milk that 12,20 per cent of the protein of the toast was digested. These results suggested that the soluble or chemical ferments of milk were the active agents which caused this increase in digestibility. There has been very little work done to show the effect of formaldehyde on the activity of the enzyme galactase. Babcock and Russell (4) claim, although they quote no experiments to prove their assertion, that formaldehyde prevents the action of galactase. Van Slyke (5) concluded from experiments conducted at the New York Experiment Station that formaldehyde in 0,1 per cent solution inhibits the action of this enzyme. No weaker solution of the formaldehyde was tried.

In studying the effect of formaldehyde on the enzyme galactase, the concentrated extract of the enzyme was used. This was obtained by allowing the slime that was taken from the milk separator cylinder to mascerate for 48 hours in a closed vessel containing water to which chloroform had been added in excess. This emulsion was filtered and 25 ccm of the filtrate added to each of the seven sterile flask. Formaldehyde was then added to flasks Nos. 1, 2, 3 and 4 in the proportion of 1 : 1500, 1 : 2500, 1 : 5000 and 1 : 10000 respectively, while flasks Nos. 5, 6 and 7 were not treated. The flasks were set aside at room temperature and at the end of 48 hours to flasks No. 1, 2, 3, 4 and 5 were added 100 ccm of milk collected under antiseptic conditions and containing 20 percent chloroform. To flasks 6 and 7 were added 100 ccm of milk collected under the same conditions but contaning formaldehyde in the proportions of 1 : 1000 and 1 : 2000 respectively. Flask No. 5 served as a control, Babcock having shown that chloroform when added to milk even as high as 30 per cent, had no effect on the activity of the enzyme galactase. Plates were made using one ccm of the contents of each flask and showed the absence of bacteria. The total nitrogen and soluble nitrogen were then determined in 10 ccm of the mixtures, the flasks set aside at 40° C for two weeks and at the end of this time plates were again made and showed that the mixtures were still free from bacteria. The total nitrogen and soluble nitrogen were also determined as before. The results are summarised in the following table.

Table XIV.

Flask No.	Extract and formaldehyde	Milk and chloroform	Milk and formaldehyde	Total N at begin. expt.	Soluble N at begin. expt.	Total N at end expt.	Soluble N at end expt.
	Ratio	Per cent	Ratio	Per cent	Per cent	Per cent	Per cent
1	1 : 1500	20	—	0,56	0,11	0,57	0,15
2	1 : 2500	20	—	0,51	0,10	0,51	0,13
3	1 : 5000	20	—	0,54	0,10	0,56	0,18
4	1 : 10000	20	—	0,53	0,10	0,56	0,24
5	—	20	—	0,53	0,10	0,56	0,26
6	—	—	1 : 1000	0,55	0,9	0,56	0,9
7	—	—	1 : 2000	0,57	0,10	0,58	0,10

These results show that formaldehyde retards the action of the enzyme galactase when used in concentrated solutions but in weaker solu-

tions it seems to have little effect and although the minimum solution necessary for preserving purposes was not tried, the results from the solutions that were used go to show that the formaldehyde when used in milk in sufficient amount to preserve the milk would have no material effect on the enzyme. As Snyder claims that 12,2 per cent of the protein in toast was digested in two hours by milk alone, I attempted to determine the amount of protein in toast that was digested in two hours by the extract of the enzyme prepared as in the previous experiment and also with the milk alone and then to study the effect of varying strength solutions of formaldehyde on the digestive properties of the enzyme, with the following results:

Table XV.

Showing the effect of formaldehyde on the digestive properties of galactase.

	Per cent
Soluble nitrogen before digestion:	
10 grams toast, 10 ccm extract, chloroform and 90 ccm water	2,22
Soluble nitrogen after digestion:	
10 grams toast, 10 ccm extract, chloroform, no formaldehyde	2,22
10 " " 10 " " " 1:2500 formaldehyde	2,26
10 " " 10 " " " 1:5000 "	2,22
10 " " 10 " " " 1:10000 "	2,28
10 " " 10 " " " 1:20000 "	2,28
Soluble nitrogen before digestion:	
10 grams toast, 10 ccm milk, chloroform and 90 ccm water	2,34
Soluble nitrogen after digestion:	
10 grams toast, 10 ccm milk, chloroform, no formaldehyde	2,34
10 " " 10 " " " 1:2500 formaldehyde	2,36
10 " " 10 " " " 1:5000 "	2,34
10 " " 10 " " " 1:10000 "	2,34
10 " " 10 " " " 1:20000 "	2,34

These results are contrary to those of Snyder (3). As will be noticed, the amount of soluble nitrogen after two hours' digestion is the same as the amount previous to digestion.

Formaldehyde having been found to be harmless in its effect upon the activity of these enzymes when used in such strength solutions as are necessary for preserving food material, and there being often danger of development in food-stuffs of various organisms which may be taken into the system through the food and liberate toxins which produce serious trouble, it was thought of interest to determine whether the formaldehyde would arrest development or kill the organism when it came in contact with it in the food stuffs.

Some of the organism found in milk such as Bacillus acidi lactici, Bacillus subtilis, Bacillus coli communis and Staphylococcus pyogenes aureus, were inoculated into bouillon tubes containing different proportions of formaldehyde and set aside in the incubator for 24 hours. Formaldehyde in the proportion of 1:20000 prevented development under these conditions. This of course does not show that formaldehyde killed the organisms. This point was also determined by inoculating another set of tubes with the organisms and allowing them to develop for twenty-four hours. Then varying strength formaldehyde solutions were added and the tubes set aside in the incubator. At the end of twenty-four, forty-eight and seventy-two hours, 1 ccm was taken from each tube and added to flasks containing 50 ccm of fresh peptonized bouillon, these flasks set aside in the incubator and the results noted. These results showed that it required formaldehyde solutions in the proportion of 1:1560 to destroy the organisms in twenty-four hours, while the proportion of 1:1870 destroyed the orga-

nisms in 72 hours. It was found that the organisms varied in their resisting power but the strength solutions given include all these organisms.

In the work with animals I was unable to detect a trace of formaldehyde leaving the body as such, or as formic acid and concluded that the formaldehyde either combined with the proteid in the system, or by synthesis the formaldehyde was converted into sugar, the steps being similar to the formation of starch in the plant from carbon dioxide and water.

Wo find a great number of people who hold that artificial digestion experiments and animal digestion experiments are worthless. It is true that a majority of conductors of artificial digestion experiments used commercial products for their active enzymes instead of fresh extracts of the various glands and some of these workers have made no attempt to duplicate the mechanical conditions which we obtain in the living stomach. The general value of their conclusions are somewhat lessened on this account, but the results being in most cases comparative, certainly cannot be said to be worthless. The results of the majority of workers that have experimented with formaldehyde are of no practical value as we find on reviewing the literature on this subject that most workers (6) have used formaldehyde solutions varying in proportion from 1 : 25 to 1 : 2000, which is out of proportion to the amount actually used or required. The chief object of most of the work that has been done was to see if formaldehyde interfered with digestion. In most cases it appears as if the workers took quantities of formaldehyde large enough to insure interference and made no attempt to study the minimum amount that could be used without interference.

Conclusions.

From the experiments the following conclusions may be drawn:

1) Formaldehyde added to milk in the proportion of 1 : 20000 preserved the milk for forty-eight hours.

2) Formaldehyde added to milk in the proportion of 1 : 10000 does not interfere with the digestibility of the milk when it is fed to calves.

3) Upon feeding calves through a long period with milk preserved with formaldehyde the calves remain healthy and gain in weight.

4) Formaldehyde added to milk in the proportion of 1 : 2500 or less, has no effect on the activity of the fresh enzymes, rennet, pepsin, pancreatin and steapsin *in vitro*.

5) Formaldehyde added to starch in the proportion of 1 : 2500 or less, has no effect on the conversion of the starch by the enzyme ptyalin and amylopsin *in vitro*.

6) Formaldehyde added to milk in sufficient quantity to preserve the milk for forty-eight hours, i. e., 1 : 20000, does not materially interfere with the action of the enzyme galactase *in vitro*.

7) Formaldehyde added to milk in the proportion of 1 : 20000 prevents the development of the more common bacteria found in milk and when added in the proportion of 1 : 1560 it kills these bacteria.

8) Formaldehyde may be added to milk in sufficient quantities to preserve the milk and prevent the development of some of the more common bacteria, i. e., 1 : 10000, and still have no deleterious effect on the digestibility of the milk for calves.

9) Formaldehyde should never be fed to calves as a milk preservative stronger than 1 part formaldehyde to 10000 parts of milk.

Bibliography.

1) Salkowski u. Hahn, Pflügers Archiv. Bd. LIX u. LXIII. — Moraczewski, Zeitschr. f. physiol. Chem. B. XX.
2) Babcock & Russell, Wiss. Ann. Rept. Ex. Stat. Vol. XIV. 1897. p. 161.
3) Snyder, Minn. Ex. Stat. Bull. No. 74.
4) Babcock & Russell, Wiss. Ann. Rept. Ex. Stat. Vol. XV. 1898. p. 77.
5) Van Slyke, Rept. N. Y. Ex. Stat. Vol. XX. 1901. p. 165.
6) Loew, Ann. Agronom. Vol. XCVIII. p. 416. — Pottevin, Ann. de Inst. Pasteur. 1897. p. 807. — Symons, Journ. Am. Chem. Soc. Vol. XIX. 1897. p. 724. — Foulerton, Lancet. Vol. XI. 1899. p. 1578. — Bliss & Novy, Journ. Ex. Med. Vol. IV. 1899. p. 60. — Halliburton, Brit. med. Journ. Vol. XI. 1900. p. 1. — Rideal & Foulerton, Pub. Health. 1899. p. 554.
7) Cripp, Analyst. Vol. XXII. 1897. p. 182. — Allen, Lancet. Vol. I. 1896. p. 1516. — Ringer, Journ. of Phys. 1895. p. 425. — Chittenden, Dietic. and Hyg. Gaz. 1893. p. 25. — Mayberry & Goldshmith, Chem. Centralbl. 1898. p. 69. — Leffman, Journ. Franklin Ind. 1899. p. 103. — Weber, Journ. Am. Chem. Soc. 1902. p. 4. — Chittenden & Gies, Am. Journ. Phys. 1898. p. 1. — Tunnicliffe & Rosenheim, Journ. Hygiene. 1901. p. 168. — Forstus, Archiv of Hygiene. Vol. XI. 1884. p. 75. — Liebreich, Vierteljahrsschr. gericht. Medizin. 1900. p. 83.

Einige Berichtigungen und weitere Mitteilungen zu der Abhandlung: „Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen“.

(Cf. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. No. 1/3, 6/8, 11/16.)

[Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur unter Verwertung eigener Beobachtungen und Untersuchungen [1].]

Von Dr. **Berthold Heinze** in Halle a. S.

(Fortsetzung.)

Neben den anderen Granuloseorganismen spielen zweifellos auch gerade die als spezielle Pektinvergärer im Boden vorkommenden Plektridienformen für die Landwirtschaft eine nicht unwichtige Rolle, die freilich erst viel eingehender erforscht werden muß, ehe man sich darüber näher äußern kann. Ueber die Wichtigkeit der Plektridien als Pektinvergärer für die Keimung der Leguminosensamen ist bereits in Kürze von Hiltner in einer bedeutungsvollen Arbeit (Arb. a. d. biolog. Abt. d. kais. Ges.-Amtes Bd. III. 1902. Heft 1), sowie auch von Störmer in einer kurzen Notiz am Schlusse seiner Arbeit über die Flachsröste hingewiesen worden. Auf alle Fälle haben wir allen Grund, neben den wichtigen N-sammelnden Organismen, neben den Fäulnisorganismen, den Ammoniakbildnern und den nitrifizierenden (und denitrifizierenden) Organismen, neben den Cellulosevergärern (unter vorwiegender H- und CH_4-Bildung)

1) Anmerkung: Diese Beobachtungen und Untersuchungen sind vom Verf. zum Teil schon während seiner Tätigkeit an der landw. Versuchsstation in Colmar i./E. gemacht worden, zum Teil jedoch erst während seiner Tätigkeit an der hiesigen landw. Versuchsstation.

und weiterhin auch neben den in erster Linie mit als Humusbewohner und Humusvergärer inbetracht kommenden wichtigen sog. Streptothrix-Pilzen, überhaupt also unter den Gärungsorganismen mannigfachster Art, unsere Aufmerksamkeit auch den säurebildenden Granuloseorganismen (mit vorwiegender Buttersäure- und Kohlensäurebildung), unter ihnen aber besonders den wichtigen Pektinvergärern — den Plektridien — zuzuwenden. Gerade sie bilden insofern einen wichtigen Faktor bei den im Erdboden vor sich gehenden mannigfachen Stoffumwandlungen, als sie im Verein mit anderen Organismen die Zersetzung organischer Substanz, d. h. ihre allmähliche Mineralisierung, vorbereiten und durchzuführen helfen.

Eine weitere Notiz über die sogenannten Leguminosenbakterien als glykogenbildende Organismen.

In seiner Arbeit „Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen" wurde vom Verf. mitgeteilt, daß nach einigen gelegentlichen Vorversuchen mit Leguminosenbakterienkulturen (Vicia Faba, Vicia sativa, Phaseolus vulgaris, Pisum sativum) auch in den sogenannten Bakteroïdengebilden dieser Organismen zuweilen recht beträchtliche Mengen Glykogen gebildet werden dürften und daß im übrigen die Vermutung, der mit Jodjodkalium sich rotbraun färbende Körper möchte Glykogen sein, auch in den neuesten, von Hiltner[1]) bekannt gegebenen umfangreichen, in vieler Hinsicht sehr interessanten und wertvollen Untersuchungen über die Wurzellknöllchen und deren Erreger ausgesprochen worden sei.

Wie Verf. bei Besprechung der sogenannten Azotobakterorganismen als besonders starke Glykogenbildner des näheren erörtert, dürfte übrigens über die Natur des betreffenden, mit Jodjodkalium sich rotbraun färbenden, und auch in den Knöllchenorganismen vorkommenden Kohlenhydrates kaum noch ein Zweifel bestehen, wenigstens nicht bezüglich der Azotobakterorganismen selbst. Ergänzend mag nun hier zunächst erwähnt werden, daß vom Verf. in den künstlichen Kulturen der oben genannten Leguminosenbakterien bei den sogenannten Bakteroïdenformen mit Ypsilon-artiger Verzweigung (Y), wenn überhaupt, nur höchst selten eine auffallend stärkere Braunfärbung von Einschlüssen und Ausstülpungen durch Jod festgestellt werden könnte; eine anscheinend immer viel reichere Glykogenbildung wurde jedoch bei den mehr runden oder kolbenförmigen, sporangiumartigen Bakteroïdenformen beobachtet.

Alsdann konnte Verf. im Laufe des vergangenen Sommers bei verschiedentlich in dieser Hinsicht vorgenommenen orientierenden Untersuchungen an frischen jungen und älteren Knöllchen von Erbsen, Wicken, Pferdebohnen (V. Faba), Bohnen (Phaseolus vulgaris), Klee und Luzerne, also an Knöllchen der verschiedensten Leguminosen, welche allerdings ausschließlich auf dem schweren Lauchstädter Boden gewachsen waren, zuweilen außerordentlich reichliche Glykogenbildung in den mehr runden, coccaceenartigen Bakteroïdenformen, und zwar bei allen erwähnten

1) Hiltner und Störmer, Neue Untersuchungen über die Wurzelknöllchen und deren Erreger. (Arbeiten a. d. biologischen Abteilung des kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. III. Heft 3. p. 151—307. Mit 4 Tafeln und 5 Abbildungen im Text. Berlin (Paul Parey) 1903. p. 253.)

Pflanzen nachweisen. Ueberall wurden übrigens neben den einfachen Knöllchen von normaler Größe auch die schon von A. B. Frank[1]) bei der Erbse erwähnten, wiederholt gabelig oder lappig verzweigten und daher zu großen, korallenähnlichen Komplexen neigenden Knöllchen angetroffen, welche nach Frank gegenüber den Eiweißbakteroïden mit sogenannten Amylodextrinbakteroïden angefüllt sind. Wir haben es jedoch hier wohl zweifellos nicht mit Amylodextrin, sondern mit Glykogen zu tun. Ueber diesen von Frank erörterten etwaigen Dimorphismus der Wurzelknöllchen der Erbse sowie über die Bakteroïden selbst läßt sich schon Hiltner in seiner oben erwähnten Arbeit des näheren aus (p. 246 ff.), weshalb Verf. zunächst auf die Hiltnerschen Ausführungen verweisen kann. In einem späteren Aufsatze wird jedoch Verf. auf diese Frage etwas ausführlicher zurückkommen, ob wir nämlich nach Hiltner in den letztgenannten Knöllchen lediglich pathologisch veränderte Leguminosenknöllchen vor uns haben, deren Ursache möglicherweise nach Hiltner in erster Linie mit auf das von der Wurzel aus vor sich gegangene Eindringen eines Pilzes mit septiertem Mycel zurückzuführen ist, zumal sich vielfach nach den Hiltnerschen Angaben auch nur der Wurzelteil, an dem ein solches Knöllchen saß, als befallen erwies, oder ob nicht vielmehr auch andere Einflüsse (abnorme Witterungsverhältnisse, beispielsweise längere Trockenperiode und weiterhin etwaige Einwanderung anderer Organismen) vorhanden sein können, welche eine an und für sich nur wenig abweichende Form der Knöllchen, hingegen oftmals eine außerordentlich abweichende Gestalt der Bakteroïden bedingen, so daß man also weniger von einem Dimorphismus der Leguminosenknöllchen, als vielmehr von einem solchen der Bakteroïden sprechen könnte. Wie schon Hiltner erwähnt (s. p. 249), findet sich nämlich an Leguminosenwurzeln fast immer eine mehr oder minder große Anzahl von Knöllchen, und zwar unter der einfachen wie auch korallenartig verzweigten, die, der Frankschen Schilderung ziemlich genau entsprechend, in einer für gewöhnlich nicht zu beobachtenden Weise so dicht mit lichtbrechenden, kugelartigen Gebilden (— sporangiumähnlichen Bakteroïden —) erfüllt sind, daß man ohne weiteres die Behauptung Franks wird bestätigen müssen, diese Knöllchen weichen von den gewöhnlich an den Erbsenwurzeln sich vorfindenden ziemlich erheblich ab. Im übrigen ändert vielleicht, wie schon Hiltner (s. p. 250) in ähnlicher Weise ausführt, an der Tatsache eines etwaigen Dimorphismus der Leguminosenbakteroïden der Umstand wenig oder nichts, daß die beiden Arten von Bakteroïden, die sich durch Form und Inhalt ziemlich wesentlich unterscheiden, durch vielfach zu beobachtende Uebergänge verbunden zu sein scheinen.

Wie nun auch Hiltner (s. p. 251) weiterhin schreibt, hat Frank seiner Angabe zufolge die eigentümlichen Knöllchen besonders an einer niedrigen Erbse gefunden, die einige Jahre im Garten seines Institutes auf demselben Felde gebaut wurde, während die gleiche Erbsensorte auf einem N-ärmeren Sandboden solche Knöllchen gar nicht trug. Möglicherweise läßt sich also dieser Befund so deuten, daß im ersteren Falle durch den mehrmaligen Anbau von Erbsen auf demselben Felde die Wurzeln frühzeitig dem Befall durch Bodenpilze verschiedener Art

1) Frank, A. B., Ueber den Dimorphismus der Wurzelknöllchen der Erbse. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellschaft. Bd. X. 1892. p. 170.)

ausgesetzt und dadurch oder durch den Mangel eines physiologisch wichtigen Nährstoffes die Entstehung der abnormen Knöllchen veranlaßt wurde.

„Da auf dem Versuchsfelde in Dahlem Erbsen schon 3 Jahre hintereinander auf demselben Felde gezogen werden, so mußten diese Pflanzen (nach Hiltner. D. Ref.), die in diesem Jahre bereits in hochgradiger Weise die Erscheinung der Erbsenmüdigkeit aufwiesen, ebenfalls solche Knöllchen tragen, und dies hat sich auch bestätigt. Soweit die Knöllchen bei der anfangs August vorgenommenen Untersuchung nicht bereits angefressen oder verfault waren, zeigten sie sogar überwiegend den abnormen Charakter. Nach einiger Uebung gelang es fast mit Sicherheit, derartige Knöllchen schon durch ihre Farbe und ihr sonstiges Aussehen gegenüber den normalen Knöllchen zu unterscheiden. Die letzteren besaßen, auch wenn sie schon in natürlicher Zersetzung begriffen waren, durchaus keine kreidige Beschaffenheit ihres Innern, vielmehr floß der Inhalt nach dem Durchschneiden sofort aus."

Eine ähnliche Beobachtung bezüglich der Bakteroïdenformen wie auch der Knöllchen von Leguminosen, allerdings einigermaßen abweichend bezüglich des Standortes derselben, konnte Verf. im vergangenen Sommer machen. Wie schon oben erwähnt, wurden derartige Unterschiede bei den Knöllchen- und Bakteroïdenformen im allgemeinen bei den verschiedensten Leguminosen auf dem bekannten schweren Boden des Lauchstädter Versuchsfeldes aufgefunden. Ganz besonders auffallend in ihrer Zahl konnten nämlich die oben erörterten eigentümlichen Knöllchen und Bakteroïden bei Leguminosen — (Erbsen, Wicken, weniger zahlreich indessen bei Pferdebohnen) — festgestellt werden, welche auf schwerem Boden als gemischter Gründung nicht sehr freudig heranwuchsen; dieser war im Frühjahre einer Brachbehandlung unterworfen und erst einige Wochen nach Pfingsten bestellt worden. Das Auflaufen der Leguminosen war noch leidlich gut; ihre weitere Entwickelung bei anhaltender Dürre aber ziemlich schlecht. Alle Leguminosen hatten schon in ganz jungem Alter massenhaft Knöllchen angesetzt und besonders auffallend zeigten obendrein die Erbsen und Wicken schon in ganz jugendlichem Entwickelungsstadium vorwiegend jene oben erörterten eigentümlichen Knöllchen, die sich übrigens zumeist durch eine etwas dunklere Farbe und ziemlich abweichende, mehr rundliche, coccaceenartige Bakteroïdenformen auszeichneten; etwas auffallend bleibt es allerdings, daß Verf. zwar in ähnlicher Weise wie oben, aber nicht regelmäßig das Vorhandensein von Pilzmycelien beobachten konnte. Leider hat Verf. diese zum mindesten auffallende Erscheinung wegen anderweitiger starken Inanspruchnahme noch nicht eingehender verfolgen können, insbesondere es auch leider verabsäumt, zum etwaigen Vergleiche, auf leichteren Böden, insbesondere auch auf Sandböden gewachsene Leguminosen einer diesbezüglichen Untersuchung zu unterziehen. Auch muß es zunächst dahingestellt bleiben, inwieweit etwa, bezw. ob überhaupt unter anderem gerade der vergangene abnorm trockene Sommer oder auch der relativ ausgezeichnete Brachboden von wesentlichem Einfluß auf diese Erscheinung gewesen sein mag. — Weiterhin soll aber nicht unerwähnt bleiben, daß der hier vorliegende gebrachte Boden bei Verwendung kleinerer und größerer Bodenmengen als Impfmaterial vorher wie nachher regelmäßig sehr üppige Azotobaktervegetationen in den für gewöhnlich für Azotobakter zur Verwendung kommenden N-armen, bezw. N-freien Kulturmedien beobachten ließ. Alsdann hat Verf. schon früher in seiner Arbeit in Kürze erwähnt, daß die sogenannten Azotobakterorganismen

ebenfalls bakteroïdenartige Formen aufweisen, und zwar besonders auffallend auf schwach alkalischer bezw. neutraler Würzegelatine, weiterhin aber auch auf gewöhnlichem 25 Proz. Bierwürzeagar (2 Proz. Agar-Agar; verdünnte Würze 25 Proz.) mit $CaCO_3$-Zusatz, übrigens Formen mit besonders starker Glykogenbildung, bei denen obendrein die einzelnen Individuen merkwürdigerweise sehr an die großen runden, sporangiumartigen, ebenfalls als sogenannte Bakteroïdenformen zu bezeichnenden Gebilde der Leguminosenbakterien erinnerten. Aehnliche bakteroïdenartige Gebilde der Azotobakterorganismen wurden vom Verf. neuerdings auf Agarnährböden erhalten, die mit und ohne $CaCO_3$-Zusatz mit Leguminosenwurzel-Kraut- und -Blätterextrakten hergerichtet worden waren, nicht aber auf den entsprechenden Gelatinenährböden, auf denen aber ebenfalls gutes Wachstum erreicht wurde. Eine geradezu verblüffende Aehnlichkeit aber hatten mit den Organismen derartiger Azotobakterkulturen die oben erörterten eigentümlichen Bakteroïdenformen der Knöllchen von jungen, auf Brachboden gewachsenen Erbsen und Wicken. Auf Grund des im allgemeinen recht üppigen Wachstums von Azotobakter in gekalkten und ungekalkten, ganz schwachen Bierwürzen, ferner in Leguminosenextrakten, insbesondere aber auch auf Würze- und Leguminosenextraktagar- und Gelatinenährböden mit und ohne $CaCO_3$-Zusatz, sowie auf Leguminosenwurzel- und Stengelstücken besteht für den Verf. kaum noch ein Zweifel, daß Azotobakter, zumal in Gesellschaft von anderen Bodenpilzen, in die Leguminosenwurzeln einzuwandern und in denselben sich auch zu entwickeln vermag, zumal Verf. aus sorgfältig mit sterilisiertem Wasser abgewaschenen, von allen Erdteilchen befreiten eigentümlichen Wicken- und Erbsenknöllchen mit den oben erwähnten auffallenden Bakteroïdenformen, also aus Knöllchen, welche obendrein eine Zeitlang in Alkohol liegen geblieben waren und verschiedene Male mit Alkohol befeuchtet abgebrannt wurden, auf Leguminosenextraktagar mit dem Bakteroïdenmaterial dieser Knöllchen Kulturen erhalten konnte, welche sich beim bloßen Augenschein wie auch mit der Lupe und mikroskopisch nicht von direkten Azotobakterkulturen unterscheiden ließen. — Ob freilich die Azotobakterorganismen selbst Knöllchenbildung hervorrufen können, was nach der Ansicht des Verf. keineswegs ausgeschlossen ist, das bedarf allerdings erst noch des ziemlich schwierigen, einwandfreien Nachweises, der naturgemäß um so schwieriger sich gestalten muß, als der Zustand des notwendigen Impfmaterials zweifellos eine außerordentlich wichtige Rolle spielt. Danach hätte man also in den für gewöhnlich im Boden vorkommenden Azotobakterformen möglicherweise nichts weiter als die normalen Bodenformen[1]) der sogenannten Leguminosenorga-

---

1) Anmerkung. Wenn es auch Hiltner (jedoch wohl nur ausnahmsweise) gelungen ist, die normalen Organismen von Leguminosenknöllchen direkt aus nicht steriler Erde zu züchten (cf. Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XXXIX. 1891. p. 330), so beweist dies aus ohne weiteres einleuchtenden Gründen nichts gegen die Möglichkeit bezw. Wahrscheinlichkeit, daß die genannten Organismen sich in der freien Ackererde in morphologisch und physiologisch mehr oder weniger stark veränderten Formen vorfinden müssen. Auch geht aus den Hiltnerschen Mitteilungen nicht ganz klar hervor, ob ihm die Isolierung von Knöllchenorganismen auch aus gewöhnlicher Ackererde oder etwa nur aus Leguminosenerde (mit etwaigen Knöllchenresten) geglückt ist. Obendrein bringen ja auch Hiltner und Störmer an anderer Stelle selbst schon eine Notiz (cf. Arb. d. biolog. Abt. d. kais. Ges.-Amtes. Bd. III. 1903. p. 264), nach welcher sie Bakteroïdenbildung und Entstehung von Aussprossungen in entsprechenden Nährlösungen bei anderen Organismen wahrgenommen haben. Möglicherweise haben also auch sie schon an sogenannten Azotobakterformen derartige Beobachtungen gemacht. Trotz verschiedentlich angestellter Versuche ist es übrigens auch dem Verf.

nismen, über die man ja bisher noch gar nichts Näheres weiß, vor sich, wofern nicht etwa direkt nahe verwandte Organismen in Betracht kommen, welche in Symbiose miteinander leben. Uebrigens konnte Verf. bei Verwendung von Passagekulturen mit und ohne $CaCO_3$-Zusatz und weiterhin bei Verwendung der verschiedenen Kaliumphosphate (KH_2PO_4, K_2HPO_4, K_3PO_4) mit Azotobakterimpfmaterial Würzeagar-Kulturen erhalten, bei denen ebenfalls reichlich sogenannte Bakteroïden beobachtet werden konnten, in diesen Fällen aber solche Formen, welche außerordentlich auffallend an die gewöhnlichen verzweigten, ypsilonartigen Gebilde der Leguminosenorganismen erinnerten. Wenn auch eine mögliche Infektion immerhin zugegeben werden muß, so ist es doch zum mindesten auffallend, daß derartige Gebilde immer nur bei Verwendung von bestimmtem Impfmateriale (Würzeagarnährböden mit Kalk) beobachtet wurden und nicht auch bei Impfmateriale, welches von vornherein N-freien bezw. N-armen festen Kulturen direkt entnommen war, vereinzelt jedoch auch bei Impfmaterialien aus flüssigen Kulturen.

Diese wenigen Beobachtungen sollen und können natürlich noch keineswegs als beweiskräftig hingestellt werden, da ja bekanntlich gerade in bakteriologischen Fragen Irrtümer sehr leicht vorkommen können, jedoch ist bei den vorstehenden Beobachtungen ein Irrtum, wenn auch nicht ausgeschlossen, so doch weniger leicht möglich, da von den betreffenden Kulturen von Zeit zu Zeit immer wieder Plattenkulturen angelegt und von isoliert liegenden, mikroskopisch kontrollierten Kolonieen abgeimpft wurde und neue Kulturen angelegt wurden. Gleichwohl will Verf. die vorstehenden Ausführungen über den etwaigen Zusammenhang bezw. nahe Verwandtschaft zwischen Azotobakterorganismen und Leguminosenorganismen zunächst noch mehr als Hypothese betrachtet wissen, die erst einwandfrei bewiesen werden muß (insbesondere also bezüglich der etwaigen Knöllchenbildung durch Azotobakter allein oder unter Mitwirkung anderer Organismen); weitere von den verschiedensten Seiten zu unternehmende Untersuchungen werden wohl zweifellos näheren Aufschluß darüber bringen, ob die Azotobakterorganismen möglicherweise nichts anderes als Entwickelungsformen der Leguminosenorganismen vorstellen, oder ob wir es vielmehr in beiden nur mit mehr oder weniger nahe verwandten Organismen zu tun haben. Ob alsdann die hier kurz erörterten Leguminosenorganismen (bezw. weiterhin auch die Azotobakterorganismen) nach der Auffassung von Hiltner, Hartleb u. A. (cf. Arbeiten a. d. kais. Ges.-Amte. biolog. Abt. Bd. III. 1903. p. 261; bezw. Forst-Naturw. Zeitschr. Jahrg. VII. 1898. p. 422; bezw. Chemikerzeitg.

---

selbst bisher noch nicht gelungen, normale Knöllchenorganismen aus Boden direkt zu isolieren; wohl aber konnten mit den verschiedensten Leguminosenböden als Impferde fast regelmäßig reichliche Azotobaktervegetationen erhalten werden. — Danach kann man also wohl mit einiger Berechtigung mit A. Fischer u. A. behaupten (cf. dessen Vorlesungen über Bakterien. 1903. p. 165), daß die Isolierung von normalen Knöllchenorganismen aus Ackererde, und zwar aus gewöhnlicher Erde, streng genommen, überhaupt noch nicht geglückt ist. Zwei Annahmen über das Bodenleben dieser Organismen sind nun möglich: Entweder können sie nicht im Boden leben, bezw. sich nicht weiter entwickeln, — müßten sich also in einer Art Vegetationsruhe im Boden vorfinden, bis sie durch die Wurzeln der Leguminosen neu belebt werden — oder sie können sich tatsächlich im Boden vermehren, aber in Formen, welche von den normalen Organismen mehr oder weniger stark abweichen. Welche Annahme den tatsächlichen Verhältnissen entspricht, muß und wird die Zukunft lehren. Schließlich würde damit möglicherweise auch die ganze theoretische N-Assimilationsfrage bezüglich der Knöllchenorganismen eine etwas befriedigendere Erklärung finden, als es bisher möglich gewesen ist.

1900. No. 82. p. 887), welcher sich auch Verf. vollauf anschließen kann, eher zu den sporenbildenden Saccharomyceten und niederen Algen als zu den eigentlichen Bakterien gestellt werden müssen, das bedarf allerdings noch recht umfangreicher Untersuchungen zur einigermaßen befriedigenden Begründung; immerhin bleibt es auffallend, und muß besonders hervorgehoben werden, wie sehr manche Entwickelungsformen dieser Organismen an Cyanophyceen bezw. an niedere Phycomyceten oder Mesomyceten (Ascomyceten) erinnern. Zweifellos werden hierüber künftige Untersuchungen mehr und mehr Klarheit bringen. Sicherlich werden wir unter anderem auch gerade durch das Studium der genannten Organismen in ihrem Verhalten gegenüber den Humusstoffen und deren Zersetzungsprodukten — (und zwar vielleicht am besten besonders im Verein mit den sogenannten Streptothrix-Pilzen als wichtigen Humusbewohnern) — etwas weiteren Aufschluß über die Biologie, Morphologie und Physiologie dieser Organismen erhalten, um daraus weiterhin zugleich auch für die praktische Landwirtschaft mehr und mehr Nutzen ziehen zu können.

Einige besondere Beobachtungen über die Sporangiennatur der sogenannten Bakteroïden von Knöllchenorganismen als Glykogenbildnern.

Der Verf. muß es selbstverständlich für überflüssig halten, etwas eingehender über die Sporangiennatur der sogenannten Bakteroïdenformen von Knöllchenorganismen zu berichten, da Hiltner diese wichtige Frage in seiner und Störmers schon mehrfach erwähnten wertvollen Arbeit „Neue Untersuchungen über die Wurzelknöllchen und deren Erreger“ bereits ausführlich erörtert hat und Verf. sich im allgemeinen dessen Ausführungen vollauf anschließen kann. Nach Hiltner müssen auch die Bakteroïden der Leguminosen unbedingt als Sporangien, wenn auch sehr unvollkommener Natur, gedeutet werden. „Ist diese Deutung richtig, so bilden die Leguminosen- und Erlenbakterien, die ohnehin schon durch ihre Fähigkeit, innerhalb von Wurzelgeweben in Form von Plasmodien zu wachsen, eine nahe Verwandtschaft bekunden, zusammen eine gut gekennzeichnete neue Gruppe von Bakterien, deren weiteres Studium die gerade jetzt wieder so lebhaft erörterte Frage über die Beziehungen zwischen Bakterien und echten Pilzen wesentlich fördern wird.“ Ganz besonders hebt Hiltner die Bakteroïden der Erlenknöllchenorganismen als sporangienartige Gebilde hervor, die sich obendrein nach Hiltner oft durch Jodtinktur rotbraun färben, und infolgedessen jenen Stoff enthalten dürften, welcher jedenfalls eine bedeutsame Rolle bei der N-Assimilation spielt. Nach diesbezüglichen besonderen Untersuchungen des Verf. hat man es auch hier zweifellos mit nichts anderem als mit Glykogen zu tun. Wenn Verf. von den Bakteroïden der Erbsenknöllchenorganismen absieht, die zuweilen auch eine ziemlich auffallende Sporangiennatur erkennen ließen, so enthüllte sich ihm dieselbe, ebenso wie Hiltner, ganz besonders auffallend bei den sogenannten Bakteroïdenformen von Erlenknöllchen, welche einem im vergangenen Sommer sehr ausgetrockneten Boden des Seebener Busches in der Nähe von Halle a. S. entstammten. Im übrigen wurde bei diesem Materiale fast ausnahmslos starke Rotbraunfärbung der sogenannten Bakteroïden mit Jodlösung, also reichliche Glykogenbildung. beobachtet, die sporangienartigen Bakteroïden selbst

erinnerten sonderbarerweise recht auffallend an die sogenannten Gonidienformen von Flechten. So deutlich wie bei den Bakteroïdengebilden der Erbsen, vor allem aber bei denen der Erlenknöllchenorganismen (nach Hiltner auch noch bei denen der Elaeagnaceenorganismen) hat sich die Sporangiennatur der Knöllchenbakteroïden bisher noch niemals enthüllt. Wie auch Hiltner weiterhin mitteilt, so beschränkt sich im allgemeinen aber trotzdem so ziemlich alles, was man bisher hat beobachten können, darauf, daß die in gewissen Nährlösungen entstehenden Aussprossungen der Bakteroïden zweifellos unter Umständen in Teile von recht verschiedener Größe zerfallen, die direkt oder nach weiteren Teilungen in Bakterien oder Bakteroïden auswachsen können. Im allgemeinen lassen auch die innerhalb der Knöllchen selbst sich bildenden Bakteroïden ihre Natur als Sporangien auffallend weniger stark hervortreten. Bei der Wichtigkeit der ganzen Bakteroïdenfrage, welche zu ihrer besseren Klärung dringend umfangreichere, von möglichst verschiedener Seite in Angriff zu nehmende Untersuchungen erheischt, mögen auch noch einige Mitteilungen in der Arbeit von Hiltner (p. 256) nicht unerwähnt bleiben, wo er sich über die Bakteroïdenformen von Leguminosenorganismen u. a. weiterhin folgendermaßen äußert: „Soviel haben diese Versuche in Lösungen mit Leguminosenextrakten bereits ergeben, daß auch in ihnen Aussprossungen an den Bakteroïden erfolgen, während mindestens bis jetzt die Bildung eines wachsartigen Stoffes zu vermissen ist. Die Entstehung der merkwürdigen Aussprossung in unseren von Leguminosenextrakten freien Lösungen stellt demnach tatsächlich einen normalen Vorgang dar."

Wie Hiltner späterhin ausführlicher darlegt, bilden sich nun diese Aussprossungen auch innerhalb der Knöllchen; dieser Vorgang soll aber nach Hiltner nur so lange anhalten, als sich die Knöllchenpflanzen im sogenannten Hungerstadium befinden, denn „als aber diese Pflanzen schließlich wirklich ergrünt waren, war von den Aussprossungen an ihren Bakteroïdeu keine Spur mehr wahrzunehmen. Die Aussprossungen bildeten sich also erst, als die Pflanzen zu hungern begannen und sie verschwanden, als das Hungerstadium überwunden war". Demgegenüber muß Verf. die seinerseits gemachte Beobachtung hervorheben, daß bei den schon oben erwähnten, auf Brachboden gewachsenen Erbsen und Wicken (viel weniger freilich bei den Pferdebohnen), die hier erörterten Aussprossungen an den Bakteroïden merkwürdigerweise sehr wohl auch dann noch zu beobachten waren, als das sogenannte Hungerstadium dieser Pflanzen längst vorüber war. Eine befriedigende Erklärung kann indessen für dieses Verhalten noch nicht gegeben werden.

Auch mögen noch einige besondere Mitteilungen Hiltners (siehe p. 256) über die abnormen Erbsenknöllchen erwähnt werden, da sie möglicherweise dazu beitragen, die in den Knöllchen sich abspielenden Vorgänge überhaupt erst dem Verständnis etwas näher zu rücken.

Nach Hiltner hat nämlich Frank „einige wichtige Tatsachen, die sich beim näheren Studium der pathologisch veränderten Erbsenknöllchen ergeben, übersehen oder nicht genügend hervorgehoben, und Möller sind sie anscheinend vollständig entgangen. Löst man aus Schnitten durch solche Knöllchen den wachsartigen Stoff durch Chloroform oder Xylol heraus, so zeigen sich in den Zellen, die mit den kugeligen Körpern angefüllt waren, die wunderbarsten Netzbildungen, die sich mit Karbolfuchsin gut färben (Taf. III. Fig. 34). Die Netze bestehen offenbar aus der eigentlichen Leibessubstanz der Bakteroïden,

innerhalb der sich der wachsartige Stoff in solcher Menge ausgeschieden hatte, daß die Bakteroïden dadurch kugelig aufgetrieben und schließlich mit dem Größerwerden stark aneinandergepreßt wurden, wobei naturgemäß die ursprüngliche runde Form verloren ging".

„Auffallenderweise finden sich aber zwischen diesen großen, für die Erbse so ungewöhnlichen Formen von Bakteroïden stets auch noch in ziemlicher Anzahl, wie übrigens schon Frank beobachtet hat, ganz kleine, stäbchenartige Bakteroïden. Hierfür gewinnt man eine Erklärung, wenn man einen mit Jod gefüllten Schnitt durch derartige Knöllchen so zerreibt, daß sich ein Teil der Kugeln aus dem Gefüge loslöst. Man sieht dann vielfach, wie ein kleines, stäbchenförmiges Bakteroïd so innig, gewissermaßen als Stielchen, mit einer Kugel zusammenhängt, daß angenommen werden muß, die Kugel sei aus dem Bakteroïd durch Aussprossung entstanden." In derselben auffallenden Weise konnte auch Verf. bei Erbsenbakteroïden die eben erörterte Beobachtung machen, in ganz besonders auffallender Weise aber bei den Bakteroïdenformen der schon oben erwähnten Knöllchenorganismen von Erbsen eines stark ausgetrockneten Bodens.

An anderer Stelle, deren genauere Literaturangabe Verf. allerdings augenblicklich nicht machen kann, bringt übrigens Hiltner u. a. auch noch die Mitteilung (und zwar, wenn Verf. nicht irrt, in einem der ersten Hefte der von ihm und von v. Tubeuf neugegründeten naturwissenschaftl. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft), daß gerade die Kulturen der Erlenknöllchenorganismen sehr bald einzugehen pflegen; dem kann jedoch Verf. nur insofern beipflichten, als man bei Verwendung ganz desselben Nährbodens, dem man das Impfmaterial entnimmt, und bei schon etwas älterem Impfmateriale, im allgemeinen tatsächlich keine weitere Entwickelung der Kulturen, oder aber nur eine recht kümmerliche erzielen wird.

Verwendet man jedoch mehr oder weniger stark modifizierte Nährböden (eventuell unter weitergehender Anwendung von geeigneten sogenannten Passagekulturen, insbesondere auch unter Berücksichtigung von $CaCO_3$ oder sonstigen erdigen Bestandteilen als Zusätzen), so wird man zu seiner Ueberraschung zumeist eine ungeahnte üppige weitere Entwickelung der Kulturen beobachten können. Besonders auffallend tritt diese Erscheinung [1]) bei den im folgenden Abschnitt noch etwas näher zu erörternden N-sammelnden Azotobakterorganismen hervor.

---

1) Anmerkung: Möglicherweise wird diese Erscheinung sogar eine mehr allgemeinere Gültigkeit haben; wegen sonstiger ziemlich starker Inanspruchnahme bezüglich seiner Arbeitszeit hat Verf. selbst, abgesehen von Knöllchenorganismen und Azotobakterorganismen, bisher leider keine Mikroorganismen einer derartigen speziellen Prüfung unterziehen können. — Vielleicht gibt jedoch die vorliegende Mitteilung dazu Veranlassung, daß auch von anderer Seite etwaigen ähnlichen Erscheinungen bei anderen Organismen Beachtung geschenkt wird. So pflegt man beispielsweise in großen medizinisch-bakteriologischen Instituten die meistens recht große Zahl von Kulturen der Institutssammlung im allgemeinen wohl immer schon nach Verlauf von 6—8 Wochen auf die entsprechenden frischen Nährböden überzuimpfen. Zwar geschieht dies zunächst wohl meistenteils aus dem Grunde, um einer allzuschnellen Abnahme der Virulenz, zumal bei den pathogenen Organismen, vorzubeugen, dann aber besonders deshalb, weil man bisweilen unliebsamerweise beobachtet, daß bei einer längeren Zwischenzeit von einer Ueberimpfung zur anderen eine Weiterentwickelung der Kulturen ziemlich oft ausbleibt, trotzdem man im allgemeinen eine recht reichliche Menge Impfmaterial zu verwenden pflegt. — Verf. zweifelt nicht, daß in vielen Fällen bei Anwendung von etwas modi-

Einige weitere Beobachtungen über die Entwickelungsbedingungen der sogenannten Azotobakterorganismen als besonders starke Glykogenbildner.

Gar mancher Forscher, welcher sich bisher unter anderem auch mit den ganz besonders als Stickstoffsammler in Betracht kommenden sogenannten Azotobakterorganismen beschäftigt hat, hielt es wohl für völlig zwecklos, d. h. für völlig aussichtslos, diese in N-freien bezw. N-armen Kulturmedien ganz ausgezeichnet gedeihenden Organismen, auch in und auf N-reichen Medien zur Entwickelung und zwar zu einer nicht minder üppigen zu bringen, wie auf den ersteren. Als nunmehr Verf. vor ungefähr 2 Jahren seine ersten Reinkulturen von Azotobakterorganismen gewonnen hatte, war es für ihn jedoch kaum zweifelhaft, daß unter geeigneten Bedingungen sehr wohl auch eine leidlich gute Entwickelung auf N-reicheren Nährböden der verschiedensten Art sich müsse erzielen lassen. Einigermaßen überrascht war allerdings Verf., als er zuweilen Kulturen erhielt, die schon nach wenigen Tagen eine ungeahnte üppige Entwickelung aufwiesen.

In seiner Arbeit „Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pfanzliche Organismen" hat Verf. bereits in Kürze hierauf hingewiesen, daß nämlich die Azotobakterorganismen neben N-freien bezw. N-armen auch in N-reichen Kulturmedien der verschiedensten Art ganz ausgezeichnet gedeihen, und daß sie sogar in gewöhnlicher Bouillon, wenn auch nur etwas mangelhaft, sich entwickeln, auffallend gut hingegen in etwas modifizierter Bouillon, sowie in Bierwürze, bei Zusatz von milchsaurem bezw. kohlensaurem Kalk. Wie weiterhin allgemein beobachtet werden konnte, scheint überhaupt der Kalk bezw. auch andere erdige Bestandteile[1]) fast ausnahmslos wenigstens bei der Kultur von Azotobakter auf festen Nährböden eine äußerst wichtige Rolle zu spielen.

So wird beispielsweise die Kultur dieser Organismen im allgemeinen immer auf festen Nährböden (Agar- oder Gelatinenährboden) mit geeigneten Kohlenhydraten oder kohlenhydratartigen Stoffen (wie Zucker, Pektinstoffen, Stärke, ferner mit Pflanzenschleimen, Cellulosespaltungsprodukten u. s. w.), sowie auch mit höheren Alkoholen (wie Glycerin, Erythrit, Mannit, Dulcit, Sorbit) durch allerlei Zusätze, wie allem gerade von erdigen Bestandteilen, Gips, Kalk etc., ferner von Asparaginsäure, Buttersäure, Propionsäure, Milchsäure in Form der Calciumsalze ganz außerordentlich gefördert werden; bei all diesen Versuchen spielt natürlich auch Temperatur und Feuchtigkeitsgehalt der Kulturen

fizierten Nährböden eine Weiterentwickelung der betreffenden Kulturen nicht ausbleiben wird. Möglicherweise gewinnt diese Erscheinung auch eine gewisse Bedeutung für die relativen Abtötungstemperaturen von Organismen; nach der Ansicht des Verf. ist es beispielsweise keineswegs ausgeschlossen, daß gewisse Organismen, obwohl sie in dem einem Falle nach einer 1-stündigen Einwirkung von 60° Wärme, dieselben Organismen, in dem anderen Falle aber schon nach $^1/_2$-stündiger Einwirkung von 70° Wärme auf einem bestimmten, für gewöhnlich recht vorteilhaften Nährboden sich nicht mehr entwickeln, also angeblich schon abgetötet sind, auf einem anderen, möglichst abweichendem Nährboden gebracht, sich noch ganz gut entwickeln können, und daß demnach eine derartige relativ niedrige Temperatur und kurze Zeit der Einwirkung möglicherweise völlig unzureichend ist, um eine vollständige Abtötung der betreffenden Organismen zu erreichen.

1) Anmerkung: Sehr gut kann man beispielsweise Azotobakter auch auf geeigneten Gipskulturen zur Entwickelung bringen, wie dies fast gleichzeitig und unabhängig von einander von v. Freudenreich und dem Verf. festgestellt und mitgeteilt werden konnte (cf. diese Zeitschrift. Bd. X. 1903. p. 518 u. p. 671).

eine nicht zu unterschätzende Rolle, ebenso allem Anscheine nach die phosphorsauren Salze, auf die weiter unten nochmals etwas ausführlicher zurückgekommen wird. Ziemlich große Sorgfalt muß auch naturgemäß auf die Wahl des Impfmateriales (relatives und absolutes Alter der zu Impfzwecken zu verwendenden Kulturen, Entwickelungsstadium der Organismen) gelegt werden, wenn man einigermaßen kräftige Azotobaktervegetationen erhalten will; indessen ist diese Vorsicht bei festen Kulturen zuweilen weniger notwendig, als wenn man Kulturen mit flüssigen Nährmedien, zumal mit möglichst N-freien anlegen und in ihnen Azotobakter zu einer einigermaßen freudigen Entwickelung bringen will.

1. Ueber die Entwickelung von Azotobakter als Reinkultur bei Verwendung verschiedenartiger Nährböden.

Wenn man kein Impfmaterial von sogenannten N-freien Kulturen, mit welchem nur in den seltensten Fällen ein allgemeineres gutes Wachstum auf verschiedenen Nährböden erzielt werden konnte, sondern solches verwandte, welches jenen Kulturen nur indirekt, direkt aber sauren 2-proz. Würzeagarkulturen mit $CaCO_3$-Zusatz (1 Teil Bierwürze, 3 Teile Wasser) bezw. ganz schwach alkalischer oder neutraler ebensolcher 10-proz. Würzegelatine entstammte, so entwickelte sich Azotobakter gut, meist üppig auf all den folgenden Nährmedien: und zwar auf dem gewöhnlich zu seiner Kultur verwandten, sogenannten N-freien

1-proz. Traubenzuckeragar und

2-proz. Mannitagar mit und ohne $CaCO_3$- oder $CaSO_4$-Zusatz;

ferner auf einem sogenannten

Spezialagar, zu welchem Azotobakterkulturflüssigkeiten unter erneutem Zusatz von Zucker (1 Proz.) mit und ohne $CaCO_3$-Zusatz verarbeitet worden waren; sodann auf demselben sauren Würzeagar (1/4 Bierwürze s. oben) mit $CaCO_3$-Zusatz, auf

neutralem und schwach alkalischem Würzeagar,

neutraler und schwach alkalischer Würzegelatine,

Zuckerrübenextraktagar mit $CaCO_3$, neutraler

Zuckerrübenextraktgelatine mit und ohne $CaCO_3$,

Bodenextraktzuckeragar mit $CaCO_3$, neutraler

Bodenextraktzuckergelatine mit und ohne $CaCO_3$,

ebensolcher Gelatine mit Zusatz von Calciumlaktat und N-Verbindungen,

neutraler Gelatine, hergerichtet aus der gewöhnlichen N-freien Zuckersalzlösung unter Zusatz von $CaCO_3$ und Calciumlaktat,

gewöhnlicher neutraler Fleischextraktpeptongelatine, unter Zusatz von $CaCO_3$ und Zucker bezw. Calciumlaktat; ferner auf

Mohrrüben mit und ohne $CaCO_3$, sowie auf

Kartoffeln mit $CaCO_3$.

Hierzu muß allerdings bemerkt werden, daß das Wachstum von Azotobakter, abgesehen von den Würzegelatinenährböden, auf den zur Prüfung herangezogenen Gelatinen auffallend schlechter als auf den entsprechenden Agarnährböden war. Die üppigste Entwickelung war entschieden immer auf Würzeagar mit $CaCO_3$ zu beobachten, wenn sie auch oftmals auf den sogenannten N-freien Agarnährböden nur unbedeutend geringer war.

In flüssigen Nährböden gedeiht Azotobakter anscheinend immer am besten unter oftmals dicker Kahmhaut- und Ringbildung an den

Gefäßwandungen in sogenannten N-freien, für gewöhnlich gebräuchlichen Traubenzucker- und Mannitsalzlösungen, vorausgesetzt, daß man kein ungeeignetes Impfmaterial von geringer Virulenz verwendet, um einen im allgemeinen wenig passenden Ausdruck auch hier einmal zu gebrauchen. Recht gutes Wachstum erhielt Verf. auch in zuckerhaltigen Bodenextrakten mit $CaCO_3$-Zusatz, zuweilen freilich keineswegs direkt in diesen Nährmedien, sondern erst in deren Filtraten, sowie in gewöhnlicher Bierwürze (unverdünnt und verdünnt — 1:4) mit $CaCO_3$. Nach neueren Beobachtungen des Verf. entwickelt sich Azotobakter auch recht gut in Bodenextrakten mit Pektinstoffen und zwar besonders vorteilhaft, wenn obendrein K_2HPO_4 oder K_3PO_4 gegeben wurde, so daß es gegenüber früheren Versuchen zu einer auffallend starken Deckenbildung kommt. Entschieden weniger gut, wenigstens nach den bisherigen Beobachtungen und Untersuchungen, entwickeln sich diese Organismen in Bodenextrakten bezw. Salzlösungen mit Leguminosenextraktzusätzen; ganz ausgezeichnet gedeiht indessen Azotobakter auch auf Gelatinen-, besser noch auf Agarnährböden, welche mit und ohne $CaCO_3$ unter Verwendung dieser Leguminosenextrakte hergerichtet wurden. Ebenso kann man Azotobakter zumal bei Kalkzusatz ganz gut sich auf Wurzel- und Stengelstücken von Leguminosen sich entwickeln sehen. Nur schlechte Entwickelung hat Verf. bei seinen bisherigen Versuchen mit Azotobakter erzielt, soweit er angefangen hat, die Beeinflussung seines Wachstums durch die verschiedensten N-Verbindungen (organische und anorganische Ammoniumsalze, Salpeter, Amide, Amidosäuren, Harnstoff, Peptone und Eiweißkörper) zu studieren. Dabei kommt allerdings in Betracht, daß das bisher gewählte Impfmaterial zufälligerweise kein sonderlich günstiges gewesen ist, indem auch auf den Agarnährböden, die ohne Zusatz irgend einer N-Verbindung geblieben waren, nur ein ziemlich kümmerliches Wachstum beobachtet werden konnte. Ueber die Beeinflussung der Azotobakterentwickelung in flüssigen Nährmedien durch die einzelnen N-Verbindungen sollen erst genauere Versuche in Gang gesetzt werden. Auffallend gute Entwickelung hat man auch schon auf festen Gipskalkkulturen, die in geeigneter Weise hergerichtet werden, erreichen können; übrigens wird man bei Zusatz von Kalk und Gips auch fast regelmäßig eine viel schnellere, auch intensivere Braun- oder Schwarzfärbung der Kulturen beobachten können, wenn auch noch manche andere Einflüsse wie bei Abwesenheit von $CaCO_3$ beispielsweise die Alkalität des Nährbodens eine gewisse Rolle spielen mögen. Ziemlich auffallend ist in dieser Hinsicht beispielsweise folgende Erscheinung: Dasselbe Impfmaterial wurde auf Leguminosenextraktagar mit $CaCO_3$ und ohne $CaCO_3$ ausgestrichen und lieferte zwei gut entwickelte schwarzbraun verfärbte Azotobakterkulturen mit dem einzigen augenscheinlichen Unterschiede, daß vielleicht die $CaCO_3$-Kultur eine Nuance tiefer verfärbt war; von diesen gleichalterigen Kulturen ausgehend, wurden gewöhnliche N-freie Agarröhrchen als Strichkulturen von genau derselben Zusammensetzung geimpft und zwar mit Nährboden ohne $CaCO_3$; wider Erwarten ist jedoch die Kultur, dessen Impfmaterial der gekalkten Leg.-Extraktkultur entstammte, selbst nach längerer Zeit fast vollständig farblos bezw. nur gelblich verfärbt geblieben, während die andere Azotobakterkultur schon bald sich schwarzbraun verfärbte. Uebrigens sind diese Organismen auch an der verschiedenartigen Färbung von Ackerböden bezw. des Bodens überhaupt zweifellos bis zu einem gewissen Grade beteiligt. Obendrein wird man schließlich

in gut durchlüfteten Sandkalkgipskulturen, (die mit Zucker- bezw. pektinstoffhaltiger Salzlösung teilweise durchtränkt werden und von Zeit zu Zeit neue Nährlösungen erhalten), wohl im allgemeinen viel üppigere Azotobaktervegetationen erhalten, als in gewöhnlichen Kulturflüssigkeiten, wenn auch zugegeben werden muß, daß besonders in flüssigen Rohkulturen von Azotobakter die sogenannten begleitenden Organismen mannigfachster Art gar oft auch recht förderlich auf seine Entwickelung einwirken können. (Pilze; säurebildende Bakterien; verschiedene Algen.)

2) Einiges über die Entwickelung von Azotobakter in Rohkulturen, d. h. bei Anwendung von Impferde.

Vor nicht langer Zeit wird von Löhnis[1]) in einer Arbeit „Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung" — und zwar nach der Ansicht des Verf., bei dem gegenwärtigen Stande der Agrikulturbakteriologie bezw. Agrikulturmykologie, dies auch mit vollem Rechte — darauf ganz besonders hingewiesen, wie viel wichtiger und wertvoller es im allgemeinen ist, nach dem Vorgange von Remy[2]) bei Untersuchungen hinsichtlich des bakteriellen Charakters eines oder mehrerer Böden relativ große Impfmengen zu verwenden, anstatt die von Hiltner[3]) empfohlene Verdünnungsmethode anzuwenden, welche obigem Zwecke auch nach der Ansicht des Verf. so lange nur sehr unvollkommen genügt, als wir über die Physiologie der verschiedenartigsten Organismen nicht besser unterrichtet sind als gegenwärtig, d. h. also, so lange unbedingt den Vorzug vor der Hiltnerschen Methode beanspruchen muß, als wir diejenigen Faktoren nicht ganz genau kennen und zu beherrschen wissen, durch welche ein bestimmter Organismus bezw. eine ganz besondere Organismengruppe die spezifische Tätigkeit unter möglichst verschiedenartigen Bedingungen sicher und kräftig zu entfalten vermag, also selbst in Nährmedien, welche zuweilen eine recht weitgehende Abweichung in der Zusammensetzung aufzuweisen haben.

(Schluß folgt.)

Ueber die Zersetzung des Kalkstickstoffs.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis.**

Da alle bisher durchgeführten einschlägigen Untersuchungen gezeigt haben, daß an sämtlichen Stickstoffumsetzungen, die sich im Boden vollziehen, Mikroorganismen beteiligt sind, so schien es mir von einiger Wichtigkeit, auch das Verhalten des Kalkstickstoffs in dieser Richtung zu prüfen, jenes neuen Präparates, das in gleicher Weise das Interesse des Chemikers wie des Landwirts in Anspruch nehmen darf, da durch die Erfindung desselben eine praktische Lösung des lange bearbeiteten Problems, auf chemischem Wege den Stickstoff der Luft zu

1) Löhnis, E., Ein Beitrag zur bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 262 u. ff.)
2) Cf. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 657.
3) Cf. Arbeiten a. d. bakt. Abt. d. Kais. Gesundheitsamtes. Bd. III. 1903. p. 474.

binden und für Industrie und Landwirtschaft nutzbar zu machen, herbeigeführt war. Vergleichende Düngungsversuche hatten gezeigt, daß der Kalkstickstoff auf die Entwickelung der auf dem Acker angebauten Gewächse meist in ähnlicher Weise einwirkte, wie die gebräuchlichen Stickstoffdünger (schwefelsaures Ammoniak und Chilesalpeter). Da aber nach allen bisherigen Erfahrungen nicht anzunehmen war, daß die im Kalkstickstoff enthaltene wirksame Substanz, das Calciumcyanamid, für die Ernährung der Kulturpflanzen unmittelbar in Betracht kommen konnte, vielmehr der Vermutung größere Berechtigung beigemessen werden mußte, daß der in dieser Bindung enthaltene Stickstoff zunächst der Ueberführung in Ammoniak und weiterhin in Salpeter bedurfte, so konnte es kaum zweifelhaft bleiben, daß man bei näherem Zusehen auch in diesem Falle auf die aktive Beteiligung von Mikroorganismen treffen mußte.

Wie A. Frank[1]) mitteilte, ist es möglich, das Calciumcyanamid bei Gegenwart von Wasser durch hohen Druck glatt in Ammoniak und Calciumkarbonat zu spalten, entsprechend folgender Gleichung:

$$CaCN_2 + 3\,HO_2 = 2\,NH_3 + CaCO_3.$$

Es handelt sich also um einen der Harnstoffzersetzung analogen Hydratationsprozeß. Entsprechende Versuche zeigten mir, daß ganz ebenso wie beim Sterilisieren einer Harnstofflösung auch beim wiederholten Erhitzen einer Kalkstickstofflösung zwar etwas Ammoniak entsteht (die in Frage kommenden Zahlen folgen sogleich), daß sich aber diese durch Magnesia usta abspaltbare Stickstoffmenge beim mehrmonatlichen Aufbewahren einer sterilen Lösung völlig unverändert erhält. Dagegen war es mir möglich festzustellen, daß in einer passend zusammengesetzten, mit Ackererde beimpften Kalkstickstofflösung unter günstigen Bedingungen verhältnismäßig rasch eine Zunahme an Ammoniakstickstoff stattfindet, und ferner konnte ich einige, in systematischer Hinsicht teils nahe verwandte, teils aber einander sehr fernstehende Bakterienarten auffinden, die, wenn auch in sehr verschiedenem Grade unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen als Ammoniakbildner tätig waren [2]).

Ehe ich mich der Besprechung der bis jetzt durchgeführten Untersuchungen zuwende, möchte ich — obgleich ich eine eingehende chemische Behandlung der Frage als außerhalb meines Arbeitsgebietes liegend erachte — mir erlauben, kurz darauf hinzuweisen, daß der in Rede stehende Ammoniakbildungsprozeß nicht ausschließlich in einer einfachen Spaltung des Calciumcyanamids zu bestehen scheint. Denn nicht nur beim Sterilisieren, sondern auch beim bloßen Aufbewahren einer normalerweise[3]) alkalisch reagierenden Kalkstickstofflösung findet eine nicht unbeträchtliche Kalkabscheidung statt. Während aber beim Sterilisieren nebenher etwas Ammoniak auftritt, fehlt dies, wie aus den weiterhin mitzuteilenden Ermittelungen hervorgeht, in letzterem Falle. Es dürfte demnach wohl in der Lösung eine wenigstens teilweise Ueberführung des Calciumcyanamids in Cyanamid bezw. Dicyandiamid stattfinden[4]). Soviel mir bekannt, ist seitens der Agrikulturchemiker bis-

1) Frank, A., Die Nutzbarmachung des freien Stickstoffs der Luft etc. (Vortrag, gehalten auf d. V. intern. Kongreß f. angew. Chemie zu Berlin 1903. S.-A. p. 5.)

2) Der zu den Versuchen benutzte Kalkstickstoff wurde mir von der Cyanidgesellschaft m. b. H., Berlin SW., Askanischer Platz 3, mit dankenswerter Bereitwilligkeit zur Verfügung gestellt.

3) Vergl. Frank, A., Ueber Kalkstickstoff. (Deutsche landw. Presse. 1905. p. 35.)

4) Auf eine entsprechende Anfrage hin wurde mir seitens der Cyanidgesellschaft

her noch nicht untersucht worden, welches Verhalten der der neutral reagierenden Ackererde einverleibte Kalkstickstoff in dieser Richtung zeigt. Nur für saure Böden hat Gerlach[1]) das Auftreten von Dicyandiamid, das nach dem genannten Autor auf die Kulturgewächse giftig wirkt, festgestellt. Allerdings dürfte in der normalen Ackererde der Nachweis dieses Körpers insofern mit Schwierigkeiten verknüpft sein, als eben in diesem Falle, vorausgesetzt, daß der Kalkstickstoff nicht in übermäßig großer Menge zugesetzt wurde, die ammoniakbildenden Bakterien die weitere Umwandlung ziemlich rasch bewirken. Ist aber die Annahme richtig, daß auch hier entsprechend dem Verhalten des Kalkstickstoffs in wässeriger Lösung zunächst Dicyandiamid entsteht, und wirkt dies in der Tat auch in geringen Mengen auf das Gedeihen der Kulturpflanzen schädlich ein, so wäre hiermit eine Erklärung gefunden für den meist recht ungünstigen Einfluß, den der als Kopfdüngung auf die heranwachsende Saat ausgestreute Kalkstickstoff auf das Ernteergebnis ausübte. Daß auf Moorboden der Kalkstickstoff entweder direkt nachteilig oder doch nur wenig günstig gewirkt hat, ist leicht verständlich, wenn man berücksichtigt, daß in sauren Böden der Bakterienbestand meist ein sehr mangelhafter ist, und infolgedessen die Ammoniakbildung, sowie die Nitrifikation entweder ganz unterbleibt oder nur in ungenügender Weise verläuft.

A. Versuche mit Rohkulturen.

In früheren Arbeiten[2]) hatte ich darauf hingewiesen, daß sich bei der Durchführung von Untersuchungen über die Stickstoffumsetzungen in der Ackererde in dem mit 10 Proz. Erde versetzten Bodenextrakt, dessen Gehalt an Kali und Phosphorsäure eventuell etwas erhöht und dem die umzusetzende Substanz in passender Menge hinzugefügt war, die jeweils in Frage kommenden Bakterien stets eine recht energische Tätigkeit entfalteten. Die bei Verwendung von Bodenextrakt erlangten Resultate standen den unter Zuhilfenahme künstlicher Nährlösungen erzielten Ergebnissen (abgesehen von der Harnstoffzersetzung) entweder gleich oder übertrafen dieselben; und selbst die Harnstoffbakterien kamen mit den im Bodenextrakt enthaltenen Kohlenstoff- und Stickstoffquellen vollständig aus, innerhalb 2—3 Wochen vermochten sie den in Menge von 5 Proz. zugesetzten Harnstoff restlos in Ammoniak überzuführen.

Danach durfte erwartet werden, daß auch in Bodenextrakt + 0,5 ‰ K_2HPO_4 + 2 ‰ Kalkstickstoff (mit 17,10 Proz. N = 0,342 g pro Liter) nach Beimpfung mit 10 Proz. Erde die Bakterien des Bodens eine entsprechende Wirkung entfalten würden. Dies war aber nicht der Fall. Innerhalb 3 Wochen war überhaupt keine Ammoniakbildung zu konstatieren und auch nach Verlauf von 6 Wochen wies die durch Magnesia usta abspaltbare Stickstoffmenge nur eine sehr geringe Erhöhung auf. Aus je 50 ccm Lösung wurden durch Magnesia usta ausgetrieben:

steril	2,10 mg
beimpft, nach 3 Wochen	2,01 „
„ „ 6 „	3,18 „

---

die Richtigkeit obiger Ansicht bestätigt. Es entsteht in der nicht erhitzten wässerigen Lösung zunächst $CaH_2(CN_2)_2$, welches weiterhin in Kalk und Cyanamid bezw. Dicyandiamid zerfällt.

1) Gerlach, Jahrb. d. Deutschen Landw.-Gesellsch. Bd. XIX. 1904. p. 36.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 461; ebenda. Bd. XIV. 1905. p. 6.

Das auffallend reichliche Stickstoffquantum, welches durch Magnesia usta aus der sterilen Lösung ausgetrieben wurde, veranlaßte mich, die Wirkung des wiederholten Erhitzens im strömenden Dampf (von der Benutzung des Autoklaven nahm ich im Hinblick auf Franks oben erwähnte Mitteilung von vornherein Abstand) einer näheren Prüfung zu unterziehen. Es wurde durch Magnesia usta aus je 50 ccm Kalkstickstoff-Bodenextrakt ausgetrieben:

Lösung, frisch bereitet, nicht erhitzt	0,42	mg [1])
„ nach 1maligem Erhitzen	0,84—1,33	„
„ „ 3 „ „	1,40—1,82	„
„ „ 5 „ „	2,10—2,38	„
„ 5mal erhitzt, 2 Monate aufbewahrt	2,24—2,38	„
Die 5mal erhitzte Lösung vor dem Destillieren mit Sublimat versetzt	0,28—0,42	„

Wie aus den an letzter Stelle angeführten Versuchen hervorgeht, muß also das Ammoniak in freier Form in der Lösung vorhanden gewesen sein. Sein durch das wiederholte Sterilisieren veranlaßtes Auftreten ließ auch der durch Nesslers Reagenz hervorgerufene rote Niederschlag erkennen, während in der nicht sterilisierten Lösung sich unter gleichen Umständen nur ein gelber Niederschlag (von HgO) bildete.

Da die Kalkstickstofflösung stark alkalisch reagiert, so prüfte ich auch noch, ob etwa erhebliche Mengen Ammoniak während des Erhitzens verloren gehen. Verluste kommen zwar vor, halten sich aber nach den Ergebnissen folgender Analysen innerhalb bescheidener Grenzen [2]). Nach Kjeldahl-Wilfarth wurden gefunden pro 50 ccm Gesamtstickstoff:

Lösung, frisch bereitet, nicht erhitzt	16,87	mg
„ nach 1maligem Erhitzen	16,90	„
„ „ 3 „ „	15,89	„
„ „ 5 „ „	14,91	„

Es wurde in der Einleitung gesagt, daß nicht nur beim Sterilisieren, sondern auch beim einfachen Aufbewahren bei Zimmertemperatur Kalk bezw. Calciumkarbonat sich aus der Lösung abscheidet. Filtriert man nach dem Auflösen der zugesetzten Substanzen den durch Kohle schwarz gefärbten voluminösen Niederschlag ab, so findet sowohl beim Sterilisieren wie auch beim Aufbewahren eine reichliche Abscheidung von Kalkschüppchen statt [3]). Versuchsweise ließ ich, nachdem vorher der Bodenextrakt im Autoklaven sterilisiert, der Kalkstickstoff, sowie die übrigen weiterhin anzuführenden, zur Einleitung der Umsetzung

1) Wie ich bereits früher (l. c. XII. p. 459. Anm. 1) erwähnte, werden auch beim Destillieren einer stickstofffreien Lösung 0,2—0,4 meist 0,3 ccm der in der Vorlage befindlichen $\frac{n}{20}$-Säure (entsprechend 0,28—0,56 mg N) entweder durch geringe, dem Glase des Apparates entstammende Alkalimengen oder durch Spuren von Ammoniak aus dem Heizgase gebunden.

2) Für die Umsetzungsversuche mit Erde wurde meist 2mal, für die Versuche mit Reinkulturen stets 5mal sterilisierte Lösung verwendet.

3) Da das Calciumcyanamid leicht in Wasser löslich ist, so ist es auf das Resultat eines Umsetzungsversuches ohne Einfluß, ob der Niederschlag abfiltriert wird oder nicht. Beim Arbeiten mit Erde ließ ich ihn der Einfachheit halber in der Lösung, dagegen wurde für die Versuche mit Reinkulturen eine filtrierte Lösung verwendet. Will man eine vollkommen klare Lösung haben, so darf nach meinen Erfahrungen das Filtrieren erst nach dem dritten oder vierten Erhitzen vorgenommen werden. — Davon, daß die abgeschiedene Substanz aus Kalk bezw. Calciumkarbonat besteht, überzeugte ich mich durch Befeuchten mit Salzsäure, sowie Lösen in Schwefelsäure und Ausfällen des Sulfats durch Alkohol.

erforderlichen Substanzen aber im nicht sterilisierten Zustande zugesetzt und das Ganze durch Papier filtriert worden war, die Lösung 5 Tage stehen. Es schieden sich während dieser Zeit beträchtliche Kalkmengen ab. Gleichwohl fiel die Prüfung mit Nesslers Reagenz negativ aus, und die Destillation ergab ebenfalls nur 0,42 mg N; es hatte also keine Ammoniakbildung stattgefunden. Weder die mikroskopische Prüfung noch die Uebertragung einiger Oesen von dieser Lösung in Bouillon ließ die Anwesenheit irgend welcher Mikroorganismen erkennen, was insofern leicht verständlich ist, als schon aus den oben mitgeteilten Ergebnissen der ersten Versuchsreihe klar hervorging, daß das Calciumcyanamid jedenfalls weder eine geeignete Bakteriennahrung darstellt, noch die Spaltung dieses Körpers, wenn auch nur einigermaßen erhebliche Mengen davon vorhanden sind, als eine leichte Aufgabe für die Bakterien angesehen werden kann.

Im Hinblick auf den Mißerfolg der ersten Vorversuche mußte einerseits in Betracht gezogen werden, daß von dem Kalkstickstoff, der, wie erwähnt, in manchen Fällen auch auf die Ackergewächse schädlich eingewirkt hat, eine relativ sehr viel größere Menge dem Bodenextrakt zugesetzt worden war, als auf dem Felde auch bei der stärksten Düngung in Anwendung gebracht wird; andererseits war zu berücksichtigen, daß der durch Auskochen von Erde gewonnene und mehrmals im Dampftopf erhitzte Bodenextrakt, wenn er sich auch den anderweit benutzten Lösungen im allgemeinen überlegen erwies, doch höchstwahrscheinlich ein für die Bakterien des Bodens weniger zusagendes Nährsubstrat darstellt als die im Acker zirkulierende Bodenflüssigkeit. Da aus analytischen Gründen der Gehalt der Lösung an Kalkstickstoff (pro 100 ccm 34,20 mg N) nicht gut vermindert werden konnte, so mußte eine Verbesserung des Bodenextraktes ins Auge gefaßt werden.

Es wurden zunächst verschiedene kohlenstoffhaltige Substanzen dem Bodenextrakt + 0,5 ‰ K_2HPO_4 + 2 ‰ Kalkstickstoff in Mengen von 2 ‰ hinzugefügt. Als unfähig die Kalkstickstoffzersetzung zu fördern erwiesen sich: Dextrin, Galaktose, Mannit, Milchzucker, buttersaurer und milchsaurer Kalk, zweifelhaft blieb der Einfluß von Kaliumoxalat und Kaliumcitrat (2,34 bezw. 2,70 mg N aus 50 ccm), einen deutlich fördernden Einfluß übte dagegen der Traubenzucker aus. Bei Verwendung dieser Substanz konnten nach 3 Wochen aus 50 ccm der mit 5 g Erde versetzten Lösung nach Zusatz von Magnesia usta 5,70 mg N abdestilliert werden.

Durch eine weitere Versuchsreihe suchte ich sodann die zur Herbeiführung einer möglichst energischen Ammoniakbildung geeignetste Zuckermenge zu ermitteln. Gleichzeitig wurde geprüft, ob vielleicht eine geringe Asparaginzugabe eine fördernde Wirkung ausübte und ferner kontrolliert, ob es zweckmäßiger sei, die stark alkalisch reagierende Lösung zu neutralisieren oder nicht. Nach Verlauf von 3 Wochen enthielten je 50 ccm Lösung + 5 g Erde an Ammoniakstickstoff (durch Magnesia usta abgespalten) in mg:

	Mit Phosphorsäure neutralisiert Traubenzucker (Proz.):					Nicht neutralisiert, Traubenzucker (Proz.):	
	0,5	0,1	0,05	0,01	—	0,1	0,01
Ohne Asparagin	5,70	5,84	6,06	6,20	.	5,88	6,68
mit 0,01 Proz. Asparagin	6,96	7,52	8,30	8,96	8,68	.	9,81

Bei den mit Asparagin erhaltenen Resultaten ist zu berücksichtigen, daß 1 mg Stickstoff dem Asparagin entstammen kann, und demnach bei der Bewertung des Effekts in Abzug zu bringen ist. Es geht aus den Ergebnissen klar hervor, daß der Zusatz einer geringen Asparaginmenge (0,1 ‰) neben einer ebenso geringen Traubenzuckerquantität vorteilhaft, andererseits das Neutralisieren der Lösung unzweckmäßig war.

Die durch den Asparagin-Traubenzuckerzusatz (je 0,1 ‰) herbeigeführte, verhältnismäßig geringfügige Aenderung in der Beschaffenheit des Bodenextraktes kompensierte demnach in befriedigender Weise die schädliche Einwirkung des in relativ reichlicher Menge angewandten Calciumcyanamids. Daß die Aenderung mit Recht als eine verhältnismäßig geringfügige bezeichnet werden kann, geht sowohl daraus hervor, daß, wie bereits früher [1]) mitgeteilt wurde, die Nitrifikation durch die entsprechenden Zusätze nicht in wahrnehmbarer Weise beeinflußt wurde, wie auch aus den folgenden Befunden zu erkennen ist, daß auch auf die Ammoniakbildung aus Knochenmehl die in Rede stehenden Zusätze keinerlei spezifische Einwirkung ausgeübt haben. Aus je 31,32 mg Knochenmehlstickstoff (in 100 ccm Bodenextrakt) wurden an Ammoniak- und Salpeterstickstoff gebildet:

	im Bodenextrakt ohne Zusatz	mit je 0,1 ‰ Asparagin + Traubenzucker
innerhalb 3 Wochen	9,30 mg	10,00 mg
„ 6 „	10,54 „	11,40 „

Die Differenz zwischen der ersten und zweiten Zahlenreihe verschwindet, wenn man das Fehlen bezw. Vorhandensein des Asparaginstickstoffes in Rechnung zieht.

Im Zusammenhang mit anderen Stickstoffumsetzungsversuchen, über die in einigen Monaten in einer größeren Arbeit zu berichten sein wird, wurde der Verlauf der Kalkstickstoffzersetzung während eines Jahres in der Weise festgestellt, daß die als zweckmäßig erkannte Lösung (Bodenextrakt + 2 ‰ Kalkstickstoff + 0,5 ‰ K_2HPO_4 + 0,1 ‰ Asparagin + 0,1 ‰ Traubenzucker) mit 10 Proz. Erde, die ungefähr aller zwei Monate einem Flurstück der Versuchswirtschaft Oberholz entnommen wurde, versetzt und sowohl nach Verlauf von 3 wie auch (von der zweiten Versuchsreihe ab) nach 6 Wochen die durch Magnesia usta abspaltbare Stickstoffmenge bestimmt wurde. Salpeterbildung konnte in den Versuchskolben während der Versuchsdauer nicht beobachtet werden, was im Hinblick auf die relativ beträchtliche Menge an freiem Ammoniak, welche in der Lösung entstand, sehr erklärlich erscheint. Die ebenfalls mit der entsprechenden Erdmenge versetzten sterilen Kontrollkolben erhielten, da sich durch Erhitzen sichere Keimfreiheit größerer Erdmengen schwer erreichen läßt, einen Zusatz von Sublimat. Infolgedessen ergaben sich, entsprechend den oben gemachten Angaben für die sterilen Kolben bei der Destillation mit Magnesia, nur sehr geringe Stickstoffquantitäten. Wenn ich bei der Berechnung der infolge der Impfung mit 10 Proz. Erde gebildeten Ammoniakmengen nur diese geringe Quantität (0,42 mg statt etwa 1,40 mg) in Abzug brachte, so ging ich von der doch wohl berechtigten Voraussetzung aus, daß im Boden diejenigen Bakterien, die das Calciumcyanamid in Ammoniak und Calciumkarbonat zu spalten vermögen, dies in gleicher Weise vom ursprünglichen Material aus tun werden, auch wenn ihrer Tätigkeit nicht durch Erhitzen vorgearbeitet

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. p. 713.

wurde. Uebrigens zeigten mir einige gelegentliche Versuche, daß in der nicht sterilisierten Lösung die Umsetzung in der Tat in ganz derselben Weise verläuft wie in der mehrmals erhitzten. Der Einfachheit halber habe ich ferner bei der Berechnung der Prozentzahlen die Asparaginstickstoffmengen unberücksichtigt gelassen, denn dieses geringe Plus wird reichlich aufgewogen durch die, wie die jedesmal nach Verlauf von 6 Wochen ausgeführten Gesamtstickstoffbestimmungen ergeben, stets vorkommenden Stickstoffverluste. Die Resultate sind also nicht absolut genau. Um dies zu erreichen, hätte, wie ich dies bei dem Harnstoffumsetzungsversuche wegen der hierbei in Frage kommenden sehr bedeutenden Stickstoffmengen allerdings tun mußte, das verdunstende Ammoniak aufgefangen werden müssen. Hierbei wird aber das Arbeiten so umständlich, daß, wenn es sich eben nicht, wie in dem zuletzt genannten Fall, um bedeutende Stickstoffmengen handelt, das Ergebnis nicht die Mühe lohnt. Denn es ist immer zu bedenken, daß bei bodenbakteriologischen Arbeiten überhaupt nie völlig zutreffende und übereinstimmende Resultate erwartet werden können. Dazu ist vor allem das Ausgangsmaterial zu ungleichartig. Ebenso überflüssig aber die Sorge um ein paar Luftkeime dann ist, wenn man mit einem Quantum Erde arbeitet, worin mehrere Millionen von Mikroorganismen enthalten sind, ebensowenig wichtig dürfte es sein, ob bei Parallelversuchen in dem einen Falle einige Bruchteile von Milligrammen Stickstoff mehr oder weniger verdunsten als im anderen. Daß trotzdem die Uebereinstimmung der Parallelanalysen bei Umsetzungsversuchen wie den in Rede stehenden, und damit die Zuverlässigkeit der Ergebnisse eine in anbetracht der Beschaffenheit des Impfmaterials recht befriedigende und weit größere als bei Bakterienzählungen ist, glaube ich hinreichend[1]) erwiesen zu haben.

Die in der nachstehenden Tabelle mitgeteilten Zahlen zeigen meines Erachtens mit ausreichender Deutlichkeit, daß die relativen Werte, und nur auf diese kommt es bei derartigen Untersuchungen naturgemäß an, durchaus zuverlässige sind, was namentlich dann hervortritt, wenn man berücksichtigt, daß die Proben I und II an zwei verschiedenen, um etwa 20 m voneinander entfernten Stellen des betreffenden Feldes (aus 10 ccm Tiefe) entnommen wurden[2]). Von jeder Erdprobe wurden je 2 Parallelversuche für die Ammoniakbildung (je 150 ccm Lösung + 15 g Erde in 500 ccm Erlenmeyer-Kolben) und ebensoviele für die Gesamtstickstoffbestimmung (je 50 ccm Lösung + 5 g Erde in 100 ccm Verbrennungskölbchen) angesetzt. Nach 3 und nach 6 Wochen wurden aus jedem der beiden Erlenmeyer-Kolben je 50 ccm (ohne Erde) abpipettiert und mit Magnesia usta destilliert, in den beiden letzteren der Gesamtstickstoff nach Verlauf von 6 Wochen nach voraufgegangenem Eindampfen der Lösung unter Schwefelsäurezusatz nach Kjeldahl-Wilfarth bestimmt.

Besonders die nach 3 Wochen erlangten Resultate lassen sehr deutlich hervortreten, welch bedeutenden Einfluß sowohl die Jahreszeit

1) l. c. Bd. XII. p. 450—457.

2) Mittels Spatens wurden 30 cm im Quadrat haltende, 20 cm tiefe Gruben ausgehoben und aus den glatt abgestochenen Seitenwänden unter Benutzung eines sauberen Blechlöffels aus 8—12 cm Entfernung unter der Oberfläche die nötige Erdmenge entnommen und in sterilisierte Glasbüchsen mit Glasstopfenverschluß gefüllt. Ebenso wie auf dem Felde wurde im Laboratorium auf sauberes und rasches Arbeiten geachtet, auf überflüssige Umständlichkeiten, wie Sterilisieren der zum Abwägen benutzten Gerätschaften etc. aber aus den oben dargelegten Gründen verzichtet.

Zersetzung des Kalkstickstoffes in Bodenextrakt + 10 Proz. Erde.

Die Lösung enthält 0,2 Proz. Kalkstickstoff = 17,10 mg Calciumcyanamidstickstoff pro 50 ccm. Durch Magnesia usta wird aus den sterilen, mit Sublimat versetzten Kolben 0,42 mg N pro 50 ccm abgespalten.

Beginn des Versuches		25. Aug. 1903	6. November 1903		15. Januar 1904		9. März 1904		9. Mai 1904		7. Juli 1904	
Dauer des Versuches		3 Wochen	3 Wochen	6 Wochen	3 Wochen	6 Wochen	3 Wochen	6 Wochen	3 Wochen	6 Wochen	3 Wochen	6 Wochen
Durch Magnesia usta wird aus je 50 ccm abgespalten mg N	Probe I	8,33	6,08	9,20	1,95	5,82	5,04	7,50	11,83	8,43	7,80	6,08
	„ II	8,33	5,96	8,26	1,75	5,48	6,58	8,02	11,13	8,71	7,24	6,08
	Mittel	8,33	6,02	8,73	1,85	5,65	5,81	7,76	11,48	8,57	7,52	6,08
Zunahme an Ammonstickstoff geg. steril	mg	7,91	5,60	8,31	1,43	5,23	5,39	7,34	11,06	8,15	7,10	5,66
	Proz.[1]	46,28	32,77	48,57	8,37	30,57	31,51	42,95	64,69	47,69	41,54	32,12
Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mg	steril	.	.	24,42	.	24,11	.	23,20	.	23,48	.	23,66
	Probe I	.	.	21,70	.	20,93	.	21,10	.	14,60	.	17,04
	„ II	.	.	21,24	.	19,95	.	19,98	.	14,94	.	16,48
	Mittel	.	.	21,47	.	20,44	.	20,54	.	14,77	.	16,76
Verlust an Stickstoff gegen steril	mg	.	.	2,95	.	3,67	.	2,66	.	8,71	.	6,90
	Proz.[1]	.	.	17,26	.	21,47	.	15,56	.	50,94	.	40,35
Gesamtstickstoffumsatz Proz.[1]		46,28	32,77	65,83	8,37	52,04	31,51	58,51	64,69	98,63	41,54	73,47

1) d. h. in Prozenten des Calciumcyanamidstickstoffes (17,10 mg).

(Bodentemperatur) wie auch der Wassergehalt des Bodens auf den Verlauf der Kalkstickstoffzersetzung ausüben. Trotzdem die Versuche stets bei 20° durchgeführt wurden und es jedenfalls in der Lösung nicht an Feuchtigkeit fehlte, machte sich der Einfluß der erwähnten Faktoren, wenn natürlich auch nicht so deutlich wie im freien Lande, so doch ganz unverkennbar geltend [1]), wie sich aus nachstehender Uebersicht ergibt:

Tag der Probenahme	Temperatur in 10 cm Tiefe °C.	H_2O-Gehalt der Proben	Proz. N in Form von NH_3 nach 3 Wochen
25. August 1903	15,6	14,2	46,28
6. Novbr. 1903	12,0	16,0	32,77
15. Januar 1904	0,0	20,5	8,37
9. März 1904	2,2	19,3	31,51
9. Mai 1904	9,2	16,0	64,69
7. Juli 1904	16,4	11,9	41,54

An anderer Stelle [2]) habe ich eine Zusammenstellung veröffentlicht, welche die Differenzen wie die Uebereinstimmungen erkennen läßt, welche sich bei einem Vergleich der Ammoniakbildung aus Knochenmehl, Kalkstickstoff und Harnstoff ergeben. Ebenda finden sich auch die Nachweise dafür, inwieweit die im Laboratorium erlangten Resultate durch die Ergebnisse des Feldversuches bestätigt wurden. Ich glaube diese vorwiegend landwirtschaftlichen Fragen an dieser Stelle übergehen zu dürfen, um so mehr, als ihnen in der schon mehrfach erwähnten Arbeit über die Stickstoffumsetzungen in der Ackererde eine eingehende Behandlung zu teil werden wird.

Daß der im Calciumcyanamid enthaltene Stickstoff in der Tat restlos durch Bakterien des Bodens in Ammoniak übergeführt werden kann, zeigten die für die im Mai dem Acker entnommene Probe resultierenden Befunde. Nach Verlauf von 6 Wochen waren 98,63 Proz. des Calciumcyanamid-Stickstoffs umgesetzt. Allerdings war hierbei ein erheblicher Anteil (50,94 Proz.) des Gesamtstickstoffs in Verlust geraten. Daß es sich aber bei diesem Stickstoffverlust nur um Ammoniakverdunstung handelt, ließen die Ergebnisse weiterer Versuche erkennen. Die mit 100 ccm Lösung + 10 g Erde gefüllten Versuchsgefäße wurden zum Teil, wie gewöhnlich, mit Watte, zum andern Teile aber mit doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen, die je zwei nahe unterhalb der unteren Fläche des Stopfens endigende Glasröhren trugen. Diese waren einerseits mit Waschflaschen, die mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllt waren, andererseits mit Vorlagen verbunden, die je 25 ccm $\frac{n}{20}$-Schwefelsäure enthielten, und in die außerdem soviel destilliertes Wasser gefüllt war, daß jedesmal das von dem Versuchskolben herüberführende Glasrohr hinreichend tief in die Flüssigkeit eintauchte. Unter Zuhilfenahme einer Wasserstrahlpumpe wurde durch die so montierten

1) Da ich diese Beobachtungen nicht nur in diesem Falle, sondern auch, natürlich mit Unterschied, bei den übrigen 5 Stickstoffumsetzungen, die ich bearbeitete, gemacht habe, so muß ich Ehrenberg (Landw. Jahrb. Bd. XXXIII. 1904) widersprechen, wenn er behauptet, daß bei derartigen Umsetzungsversuchen der Einfluß von Temperatur und Feuchtigkeit ausgeschaltet würde. Uebrigens schreibt der genannte Autor an anderen Stellen derselben Arbeit der Jahreszeit doch einen Einfluß auf den bei seinen Versuchen beobachteten Effekt der Bakterientätigkeit zu.

2) Deutsche landw. Presse. 1905. p. 51.

Kolben ein konstanter Luftstrom langsam hindurchgesaugt, der beim Eintritt in die Waschflaschen ein Wattefilter zu passieren hatte. Nach Verlauf von 6 Wochen wurde die in die Vorlagen übergegangene Stickstoffmenge mittels Rücktitration bestimmt, ferner in den einen Kolben der noch vorhandene Stickstoff nach Zusatz von Magnesia usta abdestilliert, in den anderen die Lösung unter Schwefelsäurezusatz eingedampft und der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl ermittelt. An Ammoniakstickstoff wurde pro 100 ccm in mg gefunden:

	in den Versuchskolben	in der Vorlage	insgesamt
Kolben mit Watteverschluß	18,48	.	18,48
„ „ Säurevorlage	13,22	20,70	33,92

An Gesamtstickstoff wurden ermittelt pro 100 ccm in mg:

	in den Versuchskolben	N-Abnahme gegenüber steril	in der zugehörigen Vorlage an NH_3-Stickstoff
steril[1])	48,02	.	.
bei Watteverschluß	33,53	— 14,49	.
bei Säurevorlage	29,14	— 18,88	19,18

Hieraus ergibt sich, daß die Stickstoffverluste nur durch Ammoniakverdunstung veranlaßt waren, sowie daß in der Tat infolge der Einwirkung von Bodenbakterien unter passenden Umständen die Hydratation des Calciumcyanamids in analoger Weise wie diejenige des Harnstoffs glatt und vollständig verläuft.

Beide Prozesse unterscheiden sich aber wesentlich hinsichtlich der Intensität des Verlaufs. Während die in 10 g Erde vorhandenen, an der Kalkstickstoffzersetzung beteiligten Bakterien nur unter besonders günstigen Bedingungen innerhalb 6 Wochen 34 mg Calciumcyanamidstickstoff in Ammoniak überzuführen vermochten, zersetzten die in der gleichen Bodenmenge enthaltenen Harnstoffbakterien, wenn man von der durch den Winter veranlaßten Depression absieht, regelmäßig innerhalb 2—3 Wochen 2100—2200 mg Stickstoff in Form von Harnstoff gelöst in 100 ccm Bodenextrakt + 0,5 Prom. K_2HPO_4.

B. Die an der Kalkstickstoffzersetzung beteiligten Bakterienarten.

Aus zwei Kolben der letzten Versuchsreihe (vom 7. Juli) wurde nach Verlauf von 4 Wochen zunächst je 1 ccm in je 50 ccm frische Lösung gleicher Zusammensetzung abpipettiert, und weiterhin von Woche zu Woche unter Uebertragung von je 3 Platinösen Abimpfungen in Reagenzgläsern, die mit je ca. 10 ccm Lösung beschickt waren, ausgeführt. Da eine mikroskopische Prüfung der ersten Abimpfung bereits einen ziemlich einförmigen Bakterienbestand erkennen ließ, so wurden sowohl von dieser wie auch späterhin von der sechsten Abimpfung Gußkulturen angelegt, die beide, abgesehen von einem weiterhin anzuführenden nebensächlichen Unterschied in der relativen Häufigkeit der vorhandenen Arten einen völlig übereinstimmenden Bakterienbestand erkennen ließen. Wie aus den im vorigen Abschnitt mitgeteilten Ergebnissen hinsichtlich des restlosen Verlaufs der Calciumcyanamidspaltung ergibt sich auch hieraus (unter Berücksichtigung der in Abschnitt C zahlenmäßig nachzuweisenden Tatsache, daß sämtliche dieser konstant vorkommenden Bakterienarten unter den innegehaltenen Versuchsbe-

1) Die sterilen Kolben enthielten ebenfalls 10 g Erde, die, wie gesagt, durch Sublimatzusatz sterilisiert war.

dingungen wirklich zur Ammoniakbildung befähigt waren), daß die benutzte Lösung zur Erreichung des angestrebten Zieles durchaus geeignet war. Es handelt sich um einen nahezu „vollkommenen Anhäufungsversuch“, um einen Ausdruck Beijerincks zu gebrauchen, denn gerade dieses Autors außerordentlich sinnreiche Arbeitsweise hat mir, wie ja aus den bisherigen Darlegungen schon klar zu ersehen ist, bei meinen Untersuchungen als wertvolles Vorbild gedient.

Das makroskopische Bild, welches die Entwickelung dieser Bakterien in der Kalkstickstofflösung darbietet, ist dem von der Harnstoffzersetzung her bekannten sehr ähnlich. Nach 3—4 Tagen entsteht eine sehr schwache Trübung, die nach 3—4 Wochen wieder verschwindet. Die Lösung ist geruchlos; wenigstens vermochte ich nicht, obgleich ja sicher im Verlaufe einiger Wochen einige Milligramm Stickstoff in Form von Ammoniak verdunsten, dies auf solche Art wahrzunehmen.

Bei der mikroskopischen Prüfung fanden sich in überwiegender Menge kleine Stäbchen mit abgerundeten Enden (0,75 μ dick, 1—$1^1/_2$ μ lang), seltener kokkenartige und sehr schlanke Formen. Beweglichkeit war nur an letzteren wahrzunehmen. Alle färbten sich gut mit gewöhnlichen Anilinfarben, ein Teil der Kokken und ovoiden Stäbchen auch nach Gram.

Zur Anfertigung der Gußkulturen wurde verwendet: Fleischpeptongelatine nach Günthers Vorschrift[1]), Bodenextraktgelatine und Kalkstickstoffgelatine. Die Bodenextraktgelatine war in der Weise hergestellt, daß der [auf die früher[2]) angegebene Art bereitete] Bodenextrakt + 0,5 Prom. K_2HPO_4 mit 10 Proz. Gelatine (von Grübler) versetzt und der Mischung durch Sodazusatz eine gegen Lackmus schwach alkalische Reaktion verliehen wurde. Die Kalkstickstoffgelatine wurde erhalten, indem man die zu den Umsetzungsversuchen benutzte Kalkstickstofflösung mit 10 Proz. Gelatine zum Erstarren brachte. Dieselbe zeigte (infolge der stark alkalischen Reaktion der Lösung) auch noch nach dem Kochen eine deutlich alkalische Reaktion, die ihr belassen wurde.

Die mit Hilfe dieser verschiedenen Substrate erlangten Resultate waren die folgenden:

Auf den Fleischgelatineplatten waren nur auf den am dichtesten besäten Platten nach 2—3 Tagen 2, im Parallelversuch 3 Kolonieen sichtbar, die sich bei näherem Zusehen bald als Bacterium putidum (Flügge) Lehm. et Neum. zu erkennen gaben. Nach Verlauf von 11 Tagen wurden auch einige verflüssigende gelbliche Kolonieen sichtbar, die aber auch nach 3 Wochen noch nicht zahlreich waren. Auf den Platten der zweiten bis vierten Verdünnung war innerhalb 3 Wochen durchaus kein Wachstum wahrzunehmen.

Auf der Bodenextraktgelatine war bereits nach 4 Tagen eine makroskopisch deutlich wahrnehmbare Entwickelung vorhanden. Die Platten der ersten Verdünnung waren übersät mit zitronengelben Kolonieen, so daß auf den ersten Blick eine Reinkultur vorzuliegen schien. Gebildet wurden diese Kolonieen von den oben als besonders zahlreich in der Kalkstickstofflösung vorkommend gekennzeichneten kurzen Stäbchen. Weiterhin zeigte es sich aber, daß die Kolonieen zum Teil tropfenförmig erhaben blieben, zum Teil verflüssigten. Auf der ersten Verdünnung

1) Günther, Einführung in das Studium der Bakterien. 5. Aufl. 2. Abdruck. 1902. p. 154.

2) l. c. Bd. XII. p. 461.

stellten sich auch noch 10 große verflüssigende Mycoides-ähnliche Kolonieen ein, und auf den schwächer besäten Platten fanden sich ziemlich häufig, zwischen den zahlreichen gelben verteilt, kleine, weißlichgraue, mit einem zarten Schleier umgebene Kolonieen, die bei schwacher Vergrößerung ein eigentümlich unregelmäßiges, aus wirr durcheinander laufenden Härchen bestehendes, rosettenartiges, oft von kleinen, borstigen Inselchen umgebenes Gebilde darstellten. Sie bestanden aus den ebenfalls in der Lösung gefundenen, lebhaft beweglichen, schlanken Stäbchen. — Die teilweise verflüssigten Platten rochen intensiv nach Ammoniak, die verflüssigte Gelatine zeigte stark alkalische Reaktion.

Die Kalkstickstoffgelatineplatten ergaben ein ganz analoges Bild, nur erfolgte die Entwickelung hier noch rapider. Bereits nach einem Tage waren die Kolonieen makroskopisch wahrnehmbar. Auch hier trat Ammoniakgeruch auf, außerdem erwiesen sich die dicht besäten Platten als dicht mit Calciumkarbonatkristallen durchsetzt. Das Auftreten dieser Kristalle ist indessen nicht regelmäßig wahrzunehmen und kann nicht, wie ich zuerst glaubte, als Charakteristikum einer Kolonie von kalkstickstoffzersetzenden Bakterien angesehen werden. Es verhält sich mit dieser Erscheinung genau so wie mit den Kalkniederschlägen bei der Kultur der Harnstoffbakterien. Auch deren Auftreten ist durchaus nicht konstant, wie man nach Miquels Angaben[1]) vermuten könnte. Beijerinck hat in seiner ausgezeichneten Arbeit über die Harnstoffzersetzung[2]) bereits auf die Unzuverlässigkeit dieses Merkmals hingewiesen. Meine Erfahrungen in dieser Richtung stimmen völlig hiermit überein und, wie gesagt, liegen die Verhältnisse bei der Kalkstickstoffzersetzung ganz analog.

Der bereits oben berührte, zwischen der ersten und sechsten Abimpfung bestehende Unterschied in der relativen Häufigkeit der beteiligten Bakterienarten bestand darin, daß die im ersteren Falle nur auf den am dichtesten besäten Platten in wenigen Exemplaren sichtbaren Mycoides-ähnlichen Kolonieen, im letzteren Falle viel häufiger auftraten. Im übrigen stimmte aber, wie hervorgehoben wurde, die in der ersten Abimpfung vorhandene Bakterienflora mit derjenigen der sechsten Abimpfung völlig überein.

Durch wiederholtes Anlegen von Gußkulturen (für die von der Fleischgelatine abgeimpften Kolonieen unter Benutzung von Fleischgelatine, andernfalls von Kalkstickstoffgelatine) wurden die erhaltenen Stämme gereinigt und es resultierten schließlich als beteiligte Arten folgende 5:

1) Bacterium putidum (Flügge) Lehm. et Neum. Der isolierte Stamm zeigte sich als völlig identisch mit dem von Migula beschriebenen, sowie mit einem aus Stalldünger isolierten. Mit Lehmanns und Neumanns Angaben deckt sich das Verhalten dieser Stämme insofern nicht ganz, als wenigstens bisher noch durchaus kein Verblassen des schön goldgelben Farbstoffes beobachtet werden konnte.

2) Bacillus mycoides Flügge. Der isolierte Stamm stimmte in seinem Verhalten auf allen gebräuchlichen Nährböden vollständig mit

---

1) Miquel, Étude sur la fermentation ammoniacale. (Besonders die in Kochs Jahresber. Bd. IV. p. 288 gegebene Darstellung kann sehr irre führen!) Die gleichen Angaben finden sich auch in dem von M. in Gemeinschaft mit Cambier herausgegebenen Traité de bactériologie. 1902. p. 623 und, trotz der inzwischen erschienenen Arbeit Beijerincks, hieraus wörtlich wiederholt in Lafars Handbuch. Bd. III. 1904. p. 73.

2) Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. p. 33, spez. p. 39.

Lehmanns und Neumanns Angaben, sowie mit einer aus dem hygienischen Institut Halle stammenden Kultur überein.

3) Bacterium vulgare Lehm. et Neum. var. Zopfii. Der betreffende Stamm steht in seinem kulturellen Verhalten gerade zwischen Bacterium vulgare und Bacterium Zopfii nach Lehmanns und Neumanns Darstellung, wie aus der unten folgenden ausführlichen Beschreibung zu ersehen ist. Bei der weitgehenden Variabilität der Proteus-Gruppe erscheint es mir nicht zulässig, eine neue Art auf die beobachteten Abweichungen hin aufzustellen, vielmehr dürfte es vielleicht angebracht sein, das Bacterium Zopfii als Varietät dem Bacterium vulgare anzugliedern.

4) Bacterium lipsiense nov. spec., dem Bacterium cremoides L. et N. nahestehend, und

5) Bacterium Kirchneri nov. spec., dem Bacterium helvolum (Zimm.) L. et N. verwandt.

Die 3 zuletzt genannten Arten zeigten folgendes mikroskopische und kulturelle Verhalten:

Bacterium vulgare Lehm. et Neum. var. Zopfii.

Form und Größe: Teils kokkenartig, teils schlanke Stäbchen, zuweilen lange Fäden. Von Kalkstickstoffgelatine $^1/_2$—$^3/_4$ μ dick, $^3/_4$—1 μ, selten $1^1/_2$ μ lang, von Kalkstickstofflösung $^1/_2$—$^3/_4$ μ dick, 2—4 μ lang, von Fleischagar $^1/_2$—$^3/_4$ μ dick, 1—2—4 μ lang, besonders auf diesem Subitrat oft lange Fäden.

Beweglichkeit: Lebhaft durch peritriche Geißeln.

Färbbarkeit: Gut mit gewöhnlichen Anilinfarben. Nach Gram entfärbt.

Sporenbildung: Konnte nicht beobachtet werden.

Kalkstickstoffgelatineplatte: Langsam sich entwickelnde, weißlich graue Scheibchen von zartem Schleier umgeben, nicht verflüssigend. Bei schwacher Vergrößerung: Tiefkolonieen zunächst kleine, weißgraue, kreisrunde, fein granulierte Scheiben. Oberflächenkolonieen erscheinen zunächst ähnlich, aber etwas gelblich, umgeben sich späterhin mit einem Kranz von wirr durcheinanderlaufenden Haaren, innerhalb dieser Zone findet zuweilen Bildung von kleinen inselartigen, fast nur ein Bündel von Borstengewirr darstellenden Kolonieen statt. — Geruch nach Ammoniak.

Fleischgelatineplatte: Bereits nach zwei Tagen graue schleierartige Kolonieen sichtbar. Bei schwacher Vergrößerung: Tiefenkolonieen kreisrund, scharfrandig, hellgrau, granuliert; Oberflächenkolonieen sind weniger scharfrandig, gleichmäßig hellgrau, granuliert, flach, späterhin ganz unregelmäßig gelappte Formen annehmend. (Wegen des in diesem Falle fehlenden Haarbesatzes vergleiche die unten folgenden Angaben über das Aussehen des Fleischgelatinestichs.)

Kalkstickstoffgelatinestich: Im Stiche kurze (oben 2 mm lange, nach unten hin an Länge abnehmende) borstenartige Seitenäste. Auflage flach, weißlichgrau, sinkt ohne zu verflüssigen kesselförmig ein, während der von der Auflage nicht bedeckte Teil der Gelatine als horizontaler Kreisring erhalten bleibt.

Fleischgelatinestich: Dünne bläulichweiße Auflage mit zierlich gebuchteten und geschnörkeltem Rand, zuweilen entsendet die Auflage in die Gelatine hinein einen dichten Schleier aus feinsten Härchen bestehend. Stich granuliert mit borstigen Seitenästchen. Die Auflage sinkt nach einiger Zeit (ebenso wie auf Kalkstickstoffgelatine) ohne zu verflüssigen, kesselförmig ein. Bei genauem Zusehen scheint es so, als ob um die die Höhlung auskleidende Auflage herum sich eine schmale, von trüber Bakterienmasse erfüllte Zone verflüssigter Gelatine zöge, auch die Seitenästchen am Stich beginnen erst 2 mm unterhalb der Auflage, eben an der Grenze der trüben Zone. Doch ist beim Umkehren des Glases keine Verflüssigung der Gelatine wahrzunehmen. — Auf Fleischgelatine mit (gegen Lackmus) deutlich alkalischer Reaktion, auf der sämtliche Kalkstickstoffbakterien, speziell B. lipsiense und B. Kirchneri erheblich besser wuchsen als auf solcher mit schwach alkalischer Reaktion, bildete B. vulgare var. Zopfii keine Seitenästchen im Stich (ebenso fehlten dieselben auf diesem Substrate bei B. mycoides), und ebenso fehlte der Haarbesatz der Kolonieen auf der Platte.

Fleischagarstrich: Flacher, grauweißer, transparenter, glänzender, sehr ausgebreiteter Belag, Rand mit sehr feinen Härchen besetzt. Kondenswasser klar, weißlicher Bodensatz, geringe Häutchenbildung.

Bouillon: Starke Trübung, reichlicher, weißlicher Bodensatz, dünne, lockere, maschige Decke. Kein Indol.

Milch: Nicht koaguliert, amphoter.

Kartoffel: Zuerst kaum sichtbares Wachstum. Weißlicher, glasiger Ueberzug, der nach 10 Tagen etwas bräunlich und infolgedessen besser sichtbar wird. Auf Sodakartoffel etwas reichlicher als auf gewöhnlicher Kartoffel.

Bacterium lipsiense nov. spec.

Form und Größe: Ovoide Stäbchen, oft wie Kokken erscheinend. $^1/_2$—$^3/_4$ μ dick, $^3/_4$—1 μ lang, oft zu zweien, selten in (bis zu 3 μ langen) Fäden.

Beweglichkeit: Konnte nicht wahrgenommen werden.

Färbbarkeit: Gut mit gewöhnlichen Anilinfarben. Nach Gram entfärbt.

Sporenbildung: Konnte nicht beobachtet werden.

Kalkstickstoffgelatineplatte: Nach einigen Tagen erhabene, glänzende, weißgelbliche durchscheinende Tröpfchen von 1—1$^1/_2$ mm Durchmesser. Bei schwacher Vergrößerung gleichmäßig gelbbraune, feingranulierte, scharfumrandete, kreisrunde Scheiben. An den größeren Kolonieen ist später zuweilen, nicht regelmäßig, Zonenbildung zu beobachten; das am dunkelsten braun erscheinende Zentrum ist gewöhnlich von zwei deutlich abschattierten Kreisen umfaßt. Der äußerste Kreis, obwohl der hellste, erscheint infolge Lichtbrechung am Rande dunkel. — Bei dichter Lage der Kolonieen ist Kristallbildung wahrzunehmen. — Keine Verflüssigung.

Fleischgelatineplatte: Bei neutraler Reaktion keine Entwickelung. Bei deutlich alkalischer Reaktion nach 14 Tagen 1—2 mm im Durchmesser haltende kreisrunde durchscheinende gelblichweiße Tropfen. Bei schwacher Vergrößerung: Tiefenkolonieen kreisrunde und ovale, hellbraune, scharfrandige Scheiben, Mitte dunkler (braun), nach außen zu heller; Oberflächenkolonieen scharfrandige, gelbbraune, granulierte, stark lichtbrechende, kreisrunde Scheiben. Zuweilen Rand sehr schwach gebuchtet und innerhalb der Kolonie Zonenbildung (wie für die Kalkstickstoffplatte beschrieben).

Kalkstickstoffgelatinestich: Dottergelbe, mattglänzende Auflage, geringe Entwickelung im Stich, weißlich-gelb, gekörnt.

Fleischgelatinestich: Bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion keine oder dürftige Entwickelung, bei deutlicherer Alkaleszenz gutes Wachstum. Weißgrauer, feingranulierter Faden, flache, zierlich gebuchtete, glänzende Auflage, die zunächst gelblich-weiß, später in der Mitte bräunlich wird, während sie am Rande, der zuweilen entsprechend der Buchtung radiär gestreift ist, hell bleibt. Keine Verflüssigung.

Harnstoffgelatinestich[1]): Noch etwas raschere Entwickelung als auf alkalischer Fleischgelatine, im Aussehen damit völlig übereinstimmend.

Fleischagarstrich: Glänzender, glattrandiger, erst weißlicher, später dottergelber Belag (kommt in helleren und dunkleren Schattierungen vor). Mitte dunkler (bräunlich), Rand gelblichweiß, manchmal deutliche Zonenbildung (entsprechend dem Wachstum auf Gelatine). Kondenswasser stark getrübt mit gelblichweißem Bodensatz. Ziemlich langsame Entwickelung bei Zimmertemperatur, im Brutschrank (bei 37°) noch wesentlich schlechter.

Traubenzuckeragarstich: Schwache Entwickelung im Stich. Flache ausgebreitete Auflage, zuerst gelblichweiß, später in der Mitte bräunlich wie auf alkalischer Fleischgelatine. Kein Gas.

Bouillon: Zunächst schwache Trübung, später etwas gelblicher Bodensatz, nach 3 Wochen haften oben am Glase einige gelbe Flöckchen, die sich nicht zu einem vollständigen Ring zusammenschließen. Auf alten Bouillonkulturen schwimmen gleiche gelbe Flöckchen an der Oberfläche umher, die beim leisen Schütteln zu Boden sinken. — Kein Indol.

Milch: Unverändert.

Kartoffel: Dunkelgelber, höckeriger, spärlicher, schwach glänzender Belag. Auf Sodakartoffel etwas bessere Entwickelung.

Bacterium Kirchneri nov. spec.

Form und Größe: Kurze Stäbchen mit abgerundeten Enden, zum Teil wie Kokken erscheinend. $^3/_4$—1 μ dick, 1—1$^1/_2$ μ lang, oft zu zweien, selten zu dreien oder vieren. Im gefärbten Präparat vor der Teilung helle Zone in der Mitte, danach in der Mitte eingeschnürt, die beiden Hälften erscheinen abgerundet dreieckig.

1) Fleischpeptongelatine + 3 Proz. Harnstoff.

Beweglichkeit: Konnte nicht wahrgenommen werden.

Färbbarkeit: Leicht mit gewöhnlichen Anilinfarben, auch nach Gram.

Sporenbildung: Konnte nicht beobachtet werden.

Kalkstickstoffgelatineplatte: Zunächst alle Kolonien makroskopisch kleine weiße Tröpfchen. Mikroskopisch: dunkelbraun, kreisrund, homogen, stark lichtbrechend. Später bei beginnender Verflüssigung erscheinen sie bei schwacher Vergrößerung hellbraun, Zentrum dunkler, Rand heller, fein granuliert mit heller Verflüssigungszone. Nach 8—10 Tagen sämtliche Kolonieen verflüssigt, gelbe kreisrunde Scheiben von 5 mm Durchmesser mit grauer Verflüssigungszone. — Auf dichtbesäten Platten erscheinen, wenn die Verflüssigung eingetreten ist, die neu entstehenden Kolonieen nicht homogen und stark lichtbrechend, sondern von vornherein als hellbraune, feingranulierte Scheiben, anfangs mit scharfem Rande, der später undeutlich wird. — 14 Tage alte Platten riechen intensiv nach Ammoniak, die verflüssigte Gelatine zeigt stark alkalische Reaktion.

Fleischgelatineplatte: Aehnlich wie auf Kalkstickstoffgelatine, teils dunkelbraune, homogene, stark lichtbrechende, teils hellbraune, feingranulierte, kreisrunde Kolonieen. Oberflächenkolonieen erreichen nach einigen Tagen einen Durchmesser von 4 mm, erscheinen als weiße Häutchen, bei schwacher Vergrößerung weiß, nahezu kreisrund, an 2 bis 3 Stellen schwach eingekerbt, Mitte gelblich granuliert. Deutlicher Geruch nach Fettsäuren (Fußschweiß). Erst nach 6 Tagen beginnt die Verflüssigung der Gelatine. Nach 3 Tagen liegen die runden, inzwischen gelb gewordenen Scheiben inmitten einer trüben Verflüssigungszone, in deren Peripherie strahlenförmig feste, gelbe, nadelartige, kurze Teilchen eingelagert sind, so daß das Ganze wie ein Stern erscheint.

Kalkstickstoffgelatinestich: Zunächst feingranulierter grauer Faden im Stich. Am zweiten Tage beginnt schalenförmige Verflüssigung, die sich zu einer kugeligen Aushöhlung erweitert, gefüllt mit trüber Gelatine. Später, wenn die Verflüssigung zunächst oben, aber etwas unterhalb der Gelatineoberfläche, in der die kreisrunde Oeffnung in der Mitte zunächst bleibt, die Wand des Glases erreicht, wird die Verflüssigungszone stumpf trichterförmig. Oben schwimmt eine ausgebuchtete weißgelbliche Haut, in der stumpfen Spitze des Trichters sammelt sich gelbes Sediment. Nach 3—4 Wochen wird die Verflüssigung cylindrisch, ergreift aber gewöhnlich nur $^1/_3$, selten die Hälfte der Gelatine, und rückt nach unten hin äußerst langsam vorwärts. Die verflüssigte Gelatine ist trübe, unten auf der horizontal abschneidenden festen Gelatine sammelt sich reichlich gelbliches Sediment an. Die Haut an der Oberfläche zerfällt, wenn dies nicht schon früher geschehen ist, jetzt ebenfalls und vermehrt das Sediment am Boden des verflüssigten Gelatineabschnittes.

Fleischgelatinestich: Entwickelung bei schwach alkalischer Reaktion sehr langsam, gut bei deutlicher Alkaleszenz. Mit dem Verhalten auf Kalkstickstoffgelatine im allgemeinen übereinstimmend, verschieden insofern, als die verflüssigte Gelatine, von einigen Flöckchen abgesehen, klar, und das Sediment am unteren Ende des verflüssigten Gelatineabschnitts nur gering ist, dagegen sich die ausgebuchtete weißlichgelbe Haut dauernd auf der verflüssigten Gelatine schwimmend erhält.

Harnstoffgelatinestich: Keine Verflüssigung Geringe Entwickelung im Stich, kaum sichtbare, völlig durchsichtige, spärliche, aus mehreren kurzen zierlichen baumartigen Ausläufern bestehende Auflage (nur sichtbar, wenn man das Licht von unten her darauf fallen läßt). Intensiver Geruch nach Ammoniak. (Auf dichtbesäten Harnstoffgelatineplatten ist weder makroskopisch noch mikroskopisch kaum irgend welche Entwickelung nachzuweisen, gleichzeitig findet lebhafte Ammoniakabspaltung statt.)

Fleischagarstrich: Reichlicher, saftig glänzender, erst weißgelblicher Belag mit einem Stich ins Bräunliche, später rein hellgelb, mit wenig ausgebuchtetem Rand. Kondenswasser stark getrübt mit weißgelblichem Bodensatz. Bei Bruttemperatur (37°) findet keine wahrnehmbare Entwickelung statt.

Traubenzuckeragarstich: Kümmerliche Entwickelung im Stich, ausgebreitete flache gelbe Auflage. Kein Gas.

Bouillon: Stark getrübt, nach 10 Tagen entsteht ein Ring, der erst weiß, später gelb erscheint; weiterhin bildet sich eine lockere, gelblichweiße Decke und reichlicher gelbbrauner Bodensatz. Geruch nach Fettsäuren. Kein Indol.

Milch: Nach 5 Tagen gelber Ring, nimmt weiterhin an Stärke zu. Nach 3 Wochen neutrale Reaktion, sehr unangenehmer Geruch nach Fettsäuren (Fußschweiß). Ranziger Geschmack. Nach einem Monat koaguliert bei neutraler Reaktion.

Kartoffel: Reichlicher, dottergelber, glänzender Belag. Kartoffel graubraun verfärbt.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Erkenntnis des Einflusses verschiedener Kohlenhydrate und organischer Säuren auf die Metamorphose des Nitrats durch Bakterien.

[Aus der chemisch-physiologischen Versuchsstation an der k. k. böhm. technischen Hochschule in Prag.]

Von **J. Stoklasa** und **E. Vítek.**

Wiewohl schon eine ganze Reihe von Versuchen über die durch Bakterien hervorgerufene Denitrifikation des Nitrats durchgeführt worden sind[1]), so vermissen wir bisher dennoch den Maßstab, der uns angeben

1) Bei Betrachtung der Entwickelungsgeschichte der Frage der Denitrifikation der Nitrate im weitesten Sinne des Wortes dürfen die Arbeiten, welche die Beobachtungen über die durch Mikroorganismen hervorgerufene Veränderung des Nitrats umfassen, nicht unerwähnt bleiben. Die in dieser Hinsicht den Beobachtungen französischer Forscher zugeschriebene Priorität gebührt, nach den Mitteilungen Waringtons, welche von Lemmermann in seiner Arbeit „Kritische Studien über Denitrifikationsvorgänge." Jena 1900, zitiert werden, dem Engländer Dr. A. Smith, der schon im Jahre 1867 in Manchester die Zersetzung des Nitrats beobachtet hat, falls sich dieses in einer Lösung von organischen Stoffen befindet, wobei sich Stickstoffgas entwickelte. In den folgenden Jahren stoßen wir nur auf spärliche Notizen über die Veränderung des Nitrats unter bestimmten Verhältnissen, ohne daß aber die eigentlichen Ursachen derselben angegeben wurden. Im Jahre 1875 verwies E. Meusel als erster auf die durch Mikroorganismen hervorgerufene Reduktion des Nitrats in Nitrit, obzwar schon im Jahre 1868 auch Schlösing bei der Harnzersetzung und der Milchsäuregärung des Zuckers, bei Anwesenheit des Nitrats, die Bildung von freiem Stickstoff wahrgenommen hat. Verfolgen wir nun die weiteren Angaben über die durch Mikroorganismen verursachte Reduktion des Nitrats, so müssen wir successive der Beobachtungen Bechamps, der Versuche von Lawes, Gilbert, Warington, Gayon und Dupetit gedenken, ferner die Publikationen von Dehérain und Maquenne, Springer, Heraeus und Munro anführen, denen sich die Beobachtungen von Herz über das Schwinden des Natriumnitrats aus Wein anschließt, das auch von Bergmann und Leone bestätigt wurde.

Alle diese Forscher waren aber noch immer nicht im stande, die mysteriösen chemisch-physiologischen Vorgänge zu erklären, welche sich bei der Umwandlung des Nitrats abspielen, und um so weniger war es ihnen möglich, die Art der Mikroorganismen anzugeben, welche diese Umwandlung verursachen, da sie alle mit einem zufälligen Gemenge von Mikroben gearbeitet hatten. Erst Gayon und Dupetit (im Jahre 1889) verwiesen darauf, daß die Denitrifikation durch bestimmte Mikroben hervorgerufen werde, und es gelang ihnen, zwei von denselben aus dem Boden zu isolieren, denen sie den Namen Bacillus denitrificans α und β gaben.

Ferner seien erwähnt die Versuche von Tacke, Ehrenberg und Bréal, welcher aërobe Bakterien, die das Schwinden von Nitraten aus der Lösung derselben verursachen, an der Oberfläche von vegetabilen Materien, wie z. B. auf Stroh, Heu, Luzernerklee u. s. w., fand.

Gleichzeitig studierten Giltay und Aberson einen anderen denitrifizierenden Bacillus, der sich in großer Menge in der Luft, im Wasser und im Boden vorfindet.

Bei der weiteren chronologischen Verfolgung der Arbeiten über die Denitrifikationsprozesse der Mikroben gelangen wir nun in das Jahr 1895. In diesem Jahre trat Wagner mit seinen Versuchen, welche sehr viel neues in die Erörterung über die Denitrifikation brachten und den Grund zu deren intensiverem Studium gaben, vor die Oeffentlichkeit und weckte dadurch das Interesse aller Agrikulturchemiker. Gleich nach der Publikation wurden die Versuche Wagners und Bréals von Burri und Stutzer und später von Stutzer im Verein mit Maul wiederholt. Interessante Resultate erzielte auch Egunow, der die Versuche Bréals wiederholte.

Auch nach der Isolierung neuer denitrifizierender Mikrobenarten zeigte sich ein größeres Verlangen, wie aus den Arbeiten einiger bereits oben erwähnten Forscher, sowie aus den Arbeiten Ampolas und Garinos, ferner Schirokikhs und Sewerins zu erkennen ist, und dieses Verlangen war auch erfreulicherweise von Erfolg gekrönt. In den Rahmen unserer Beobachtungen schließt sich dicht die Studie Jensens

würde, wie weit der Einfluß seitens der Konstitution der Kohlenhydrate und der organischen Säuren auf diese Prozesse, die eine so eminente biologische Bedeutung haben, reicht.

Neben der Denitrifikation der Salze der Salpetersäure verläuft bei zahlreichen Mikrobenarten auch die Ammonisation — die Umwandlung des Salpeterstickstoffs in Ammoniak — parallel. Die Reduktion der Salpetersäure zu salpeteriger Säure und im weiteren Verlaufe des Reduktionsprozesses zu Ammoniak oder zu elementarem Stickstoff wird durch die Mikrobenzelle zum Zwecke der Bildung von Eiweißstoffen innerhalb derselben aus den Kohlenhydraten oder den organischen Säuren sowie den Nitraten hervorgerufen.

Heute wissen wir mit voller Bestimmtheit, daß gewisse Kohlenhydrate oder organische Säuren für die meisten Bakterienarten als Quelle der Energie bei der Metamorphose des Nitrats zu betrachten sind. Die Intensität dieser Energie ist abhängig von der Konfiguration der Atome in dem Molekül der Kohlenhydrate und der organischen Säuren. Nach unseren neuesten Beobachtungen steht fest, daß mit der Synthese der Eiweißstoffe resp. mit der Entwickelung neuer lebender Materie der Bakterien die Intensität der Atmung der Mikroben in gewissem Zusammenhange steht und gerade die Intensität der Atmung der einzelnen Bakterienarten ist ausschlaggebend für die Potenz teils der Ammonisation, teils der Denitrifikation der in dem Nitrate enthaltenen Salpetersäure.

Bei der quantitativen Beurteilung der Entwickelung der neuen, lebenden Bakterienmaterie kann man die Menge des zum Aufbau der Eiweißstoffe verbrauchten Stickstoffnitrats sowie die Verluste an Stickstoff feststellen, welche bei der Dissimilation der Denitrifikationsbakterien dadurch entstehen, daß der Stickstoff in Form von elementarem Stickstoff frei wird.

Die Bakterien, welche die Salpetersäure in dem geeigneten Nährmedium zu Ammoniak umwandeln, verursachen keine Stickstoffverluste.

Durch das Studium der Vitalvorgänge der Mikroben: Bac. Hartlebi, Bac. fluorescens liquefaciens, Bact. pyocyaneum, Bact. Stutzeri, Bact. centropunctatum, Bact. filefaciens, Bac. denitrificans, Bact. coli commune, Bact. nitrovorum und Bac. typhi abdominalis in verschiedenen Nährmedien bei Gegenwart von Natriumnitrat, sowie durch das abweichende Verhalten der Mikrobengruppe: Bac. megatherium, Bac. mycoides, Bac. subtilis, Bac. mesentericus vulgatus, Bac. ramosus n. liquefaciens, Proteus vulgaris und Proteus Zenkeri zum Natriumnitrat ist ein neuer Weg zur Erkennung der charakteristischen Eigenschaften dieser Mikroben in ihren Lebensprozessen eröffnet werden.

Indem wir uns mit dieser Frage befaßten, haben wir in erster

über das Verhalten der Denitrifikationsmikroben gegenüber den einzelnen kohlenstoffhaltigen Nährmedien. Eine einigermaßen bedeutendere Vertiefung der Denitrifikationsprozesse bieten Weissenberg, Künnemann, Pfeiffer und Lemmermann in ihren Arbeiten. Der Vollständigkeit halber seien ferner noch die Arbeiten Wolfs und Marpmanns genannt, welche Autoren es ebenfalls versucht haben, auf Grund ihrer Arbeiten Licht in die Frage der Denitrifikation zu bringen. In den letzten Jahren suchten zahlreiche der genannten Forscher durch Wiederholung der Versuche die ins Dunkel gehüllten biochemischen Denitrifikationsprozesse aufzuhellen und ihre Reihe wurde durch Forscher wie Baur, Höflich, Maassen und Salzmann vermehrt. Die neueste Arbeit betreffs der Isolierung von fluoreszierenden Denitrifikationsbakterien rührt von Christensen her und die Versuche mit Denitrifikationsmikroben von van Iterson jr.

Linie Medien für die genannten Mikrobenarten gewählt, welche von jenen verschieden waren, die andere Forscher, welche sich mit der Frage der Denitrifikation ebenfalls schon früher befaßt haben, gewählt hatten [1]).

Als stickstoffhaltige Nährquelle diente uns in allen Fällen bloß das Natriumnitrat und von den Kohlenstoffnährquellen entweder die Kohlenhydrate, und zwar von den Hexosen d-Glukose, d-Lävulose, d-Galaktose, von den Pentosen l-Arabinose und l-Xylose oder die organischen Säuren: Buttersäure, Valeriansäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Aepfelsäure etc., welche allerdings vorher mittels kohlensaurem Natron bis zur neutralen Reaktion neutralisiert wurden.

Es fand sich daher in der Lösung außer den kohlenstoffhaltigen Nährmedien immer nur eine von den angeführten organischen Säuren oder Kohlenhydraten vor. Was die Menge der verwendeten Nährmedien betrifft, so kommen auf 1000 ccm Wasser folgende Nährstoffquantitäten in Betracht: 2--2,5 g Kohlenstoffnährquelle (Kohlenhydrat oder neutralisierte organische Säure) und 2 g Natriumnitrat als Stickstoffnährquelle neben anorganischen Nährsalzen, welche in nachfolgend angegebenen Mengen hinzugefügt wurden:

1,25 g K_2HPO_4
0,20 „ K_2SO_4
0,05 „ $CaCl_2$
0,05 „ $MgCl_2$
0,10 „ Na_2CO_3
0,05 „ $FePO_4$

1) Eine große Zahl von Forschern verwendete, wie aus der Literatur ersichtlich ist, Nitratnährböden (Bouillon) — namentlich zum Studium der Denitrifikationsprozesse im engsten Sinne des Wortes — verschiedener Zusammensetzung, in welchen häufig diverse Fleischextrakte, Pepton, Asparagin u. a. neben manchen Kohlenhydraten vertreten waren. Bei unseren Versuchen verwendeten wir, wie bereits früher angegeben wurde, neben mineralischen Nährstoffen nur eine einzige Kohlenstoffnährquelle, entweder in Kohlenhydratform oder in Form eines neutralen Salzes einer organischen Säure.

Am häufigsten begegnen wir bei den Versuchen der Denitrifikationsprozesse der Mikroben in gewisser Richtung der Giltay-Abersonschen Lösung, welche in 1 l enthält:

2 g $NaNO_3$
2 „ $MgSO_4$
2 „ K_2HPO_4
0,2 g $CaCl_2$
2 g Glukose
5 „ Citronensäure, neutralisiert mit Soda
und einigen Tropfen Eisenchlorid.

Diese Lösung wurde außer den angeführten Autoren auch von Burri und Stutzer, Jensen, Künnemann und anderen bei ihren Versuchen verwendet.

Gayon und Dupetit ersetzten die Glukose durch eine größere Menge Asparagin.

Weissenberg wählte für seine Versuche das Nährsubstrat, welches von Fränkl und Vogel zusammengestellt wurde, und welchem er entweder Kalium- oder Natriumnitrat oder Kalium- oder Natriumnitrit hinzufügte, während er für andere Versuche ebenfalls Ammoniumnitrat eventuell auch Asparagin gewählt hatte. Das Fränklsche Medium eignet sich, wie er selbst durch Versuche sichergestellt hatte, ganz gut für die Kultur des Bac. prodigiosus, Proteus vulgaris, Bact. pyocyaneum, Bact. coli, Bac. typhi und anderer.

Maassen verwendete bei der Feststellung des Ammoniaks in einem Medium, das frei von Eiweißstoffen sowie Kohlenhydraten ist, neben anorganischen Bestandteilen, wie: 0,5 g NaCl, 0,5 g Na_2CO_3, 0,1 g $MgSO_4$, 7 g Aepfelsäure, neutralisiert mit Natrium-Karbonat und 20 g Glycerin unter Hinzugabe von 2,5 $NaNO_3$.

Wie aus dem Gesagten hervorgeht, enthalten alle diese verschiedenartig kombinierten Medien wenigstens zwei diverse Kohlenstoffquellen.

Die Kolben, welche zu den Versuchen verwendet wurden, faßten 2300 ccm. Nach gründlicher Sterilisation und nach Ablauf des Inkubationsstadiums wurden dieselben mit den einzelnen Bakterienarten, und zwar mit Kulturen aus den oben angeführten Nährmedien geimpft und mindestens durch 30 Tage unter vollständigem Ausschluß des Tageslichtes in der Brutkammer bei einer Temperatur von 28—30° C belassen. Die Impfung erfolgte stets mit einer gleichmäßigen Menge von Kulturen (5 ccm). Die Menge des Salpeters, sowie die des organischen Stickstoffes, die in dem Nährmedium enthalten waren, wurde durch die Analyse genau festgestellt. Die Aeußerungen der vitalen Prozesse mancher Mikrobenarten, besonders wenn die Nährlösung als Kohlenstoffnährquelle manche Kohlenhydrate, wie Galaktose oder Lävulose enthielt, schritten so langsam vorwärts, daß nach der oben angegebenen Zeit von 30 Tagen, wie wir uns an den ersten Versuchen überzeugt haben, überhaupt keine Veränderung des Natriumnitrates wahrzunehmen gewesen ist. Deshalb wurden die geimpften Kolben mancher Species bei späteren Versuchen eine längere Zeit in der Brutkammer gelassen und dann erst analysiert. In den einzelnen Tabellen ist die Versuchsdauer angegeben, und wenn sie mehrere Monate in Anspruch nahm, speziell bezeichnet. Nach der oben angedeuteten Frist wurden die Kolben der Reihe nach geöffnet und ihr Inhalt der Analyse unterworfen. In erster Linie wurde der Stickstoff bestimmt, und zwar in folgenden Formen:

a) als Ammoniak,
b) als salpetrige und Salpetersäure, und
c) in organischer Form.

Bei der Analyse wurde in nachstehender Weise vorgegangen:

Der Inhalt des Kolbens wurde nach dem Versuche auf 2000 ccm verdünnt. Von dieser 2000 ccm betragenden Flüssigkeit wurden 500 ccm zur Bestimmung des Ammoniaks abgemessen, und zwar erfolgte diese entweder durch Destillation mit MgO oder nach der Methode Baumann-Böhmer in der Weise, daß eine Portion von 500 ccm der oben erwähnten verdünnten Flüssigkeit von 2000 ccm sehr schwach mit Phosphorsäure angesäuert, im Wasserbade bis auf einen kleinen Rest eingedampft und dieser in ein Becherglas abgespült wurde, so daß derselbe etwa 100 ccm betrug. Aus dieser Lösung wurden die vorhandenen Eiweißkörper nach der Methode Stutzers gefällt, d. i. dieselbe bis zum Sieden erhitzt, dann ihr etwa 3 ccm Alaun hinzugefügt und nach teilweiser Abkühlung 5 ccm Kupferoxydhydrat (enthaltend 0,3—0,4 g $Cu(OH)_2$) zugegossen. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit Wasser durchgewaschen. Das Filtrat, welches eine schwach saure Reaktion zeigte, wird neuerdings bis auf etwa 50 ccm abgedampft und demselben 50 ccm Schwefelsäure (1 : 1) und 80 ccm phosphorwolframsaures Natron (200 g Natriumwolframat und 120 g Natriumphosphat gelöst in 1000 ccm Wasser) hinzugefügt. Dieses Gemisch wird auf 60° erwärmt und auf die Dauer von 48—72 Stunden unter eine Glasglocke gestellt. Der sich bildende Niederschlag wird auf dem Filter aufgefangen und nach erfolgtem Waschen mit verdünnter Schwefelsäure (Verdünnungsverhältnis 1 : 2) samt dem Filter in einen Destillationskolben gebracht und mit Magnesia (MgO) destilliert. In einem Quantum von 500 ccm der Lösung, welche zur Feststellung der salpetrigen und Salpetersäure bestimmt waren, wird vorerst ebenfalls das Ammoniak mittels Destillation mit Natronlauge bestimmt. Allerdings gibt die Destil-

lationsmethode mittels Natronlauge höhere Resultate, weil durch diese Destillation teilweise die in der Lösung vorhandenen stickstoffhaltigen Substanzen gespalten werden. Die Differenz zwischen dem Stickstoff, welcher in Form von Ammoniak durch Destillation mit Magnesia und jenem, welcher durch Destillation mit Natronlauge gefunden wurde, wurde dem organischen Stickstoffgehalte zugezählt. Die Salpetersäure wurde in dieser 500 ccm betragenden Flüssigkeit nach der Abdestillation des Ammoniaks mittels Natronlauge nach der Methode Dewardas bestimmt. Zu dem entsprechend abdestillierten Reste werden etwa 5 ccm Alkohol und 2,5 g Dewardascher Mischung hinzugefügt und nach beendigter Reduktion das aus der Salpetersäure entstandene Ammoniak abgetrieben. In der Lösung wurde schließlich nach der Bestimmung des Ammoniaks und der Salpetersäure, nach gründlicher Ansäuerung mittels Schwefelsäure, der organische Stickstoff nach der bekannten Methode Kjeldahls bestimmt. Die salpetrige Säure neben der Salpetersäure wurde in besonders abgemessenen Partieen nach der modifizierten Methode Pellets in einem hierzu speziell konstruierten Apparate festgestellt. Der Stickstoff in Form von Salpetersäure läßt sich, wenn diese namentlich in einer größeren Menge vorhanden ist, durch eine andere Methode genau neben Ammoniak und organischem Stickstoff, speziell bei Gegenwart von Hexosen oder Pentosen, sowie von Dissacchariden in der Flüssigkeit nicht bestimmen, wovon wir uns durch zahlreiche Beobachtungen überzeugt haben. Die Methode Jodelbauers, sowie die modifizierte Methode Försters geben regelmäßig niedrigere Resultate.

Qualitativ wurde zumeist die salpetrige Säure, die Salpetersäure und das Ammoniak (das letztere bloß in Lösungen, wo keine Kohlenhydrate vorhanden waren, denn diese geben mit dem Nesslerschen Reagens, dessen man sich zum Nachweis des Ammoniaks bedient, eine analoge Reaktion) nach den bekannten und bewährten Methoden bestimmt.

Die Feststellung der einzelnen Formen der Eiweißkörper, welche durch die Lebensprozesse der Mikroben entstanden sind, wurde nach der Methode von Hausmann durchgeführt, und das nicht nur in der Mikrobenkultur, welche auf dem Filter, das aus Glasperlen bestand, aufgefangen wurde, sondern auch in der Lösung, in welcher allerdings das hinzugefügte Natriumnitrat nicht mehr als solches gegenwärtig war, sondern bloß als organischer Stickstoff, in welch letzteren das Nitrat zum Teile verwandelt worden war. 500 ccm des Filtrats oder eine Mikrobenkultur in 500 ccm Wasser wurde in einem Apparate, wie man denselben zur Bestimmung des Stickstoffs in Ammonsalzen verwendet, auf ca. 100 ccm abgedampft.

Das allenfalls entweichende Ammoniakgas wird in einem Kolben mit $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure aufgefangen.

Nach gründlicher Abkühlung werden 20 ccm konzentrierter Chlorwasserstoffsäure hinzugefügt, der Kolben mit einem Rücklaufkühler versehen und der Inhalt durch 5 Stunden gekocht. Nach gründlicher Abkühlung und vorsichtiger Neutralisation mit gebrannter Magnesia, unter fortwährendem Umrühren, wird das Ammoniak aus dem Chlorammonium durch überschüssige Magnesia vertrieben. Nach der Destillation wird der Rest in Chlorwasserstoffsäure gelöst, auf ein kleines Volumen abgedampft und mittels Phosphorwolframsäure gefällt. Nach 24—30 Stunden erfolgt die Abfiltrierung des Niederschlages, welcher mit einer stark verdünnten Lösung von Phosphorwolframsäure, zu der Chlorwasserstoff-

säure hinzugefügt worden war, durchgewaschen wurde. Der Niederschlag wird hierauf samt dem Filter in einen Kolben eingetragen und der Stickstoff des Inhaltes nach der Methode Kjeldahl's bestimmt. Im ganzen Filtrate oder bloß in der Hälfte desselben wird der Stickstoff ebenfalls nach der Methode Kjeldahl's bestimmt. Der eventuell überdestillierte Stickstoff in Form von Ammoniak, und zwar überdestilliert durch bloßes Kochen bei einer Konzentration der Flüssigkeit von 500 ccm auf 100 ccm ist zu jenem Stickstoff hinzuzurechnen, welcher mittels Kochens mit Chlorwasserstoffsäure und durch Austreiben mittels Magnesia gewonnen wurde.

Es seien hier, der Kürze wegen, die einzelnen Formen dieses Stickstoffs angeführt.

1) Amidstickstoff (abgespalten durch Kochen mit Chlorwasserstoffsäure,

2) Diaminostickstoff (gefällt mittels Phosphorwolframsäure), und endlich

3) Monoaminostickstoff (Filtrat des mittels Phosphorwolframsäure gefällten Niederschlages).

Neben der Bestimmung des Stickstoffs in der Lösung der einzelnen Bakterienarten wurde auch das betreffende, nicht zersetzte, restliche Kohlenhydrat bestimmt und zwar jedes nach der entsprechenden Methode. Von der auf 2000 ccm verdünnten, die Hexosen enthaltenden Lösung, wurde ein Quantum von 200 ccm abgemessen und durch hinreichendes Hinzufügen (2—5 ccm) basischen Bleiacetats gefällt. Die klare Flüssigkeit wurde filtriert, das überschüssige Blei mit kohlensaurem Natron herausgefällt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und von dem Filtrate erst eine entsprechende Menge zur Bestimmung des Zuckers verwendet, welcher in der Lösung übrig geblieben war.

Die Glukose wurde nach der bekannten Methode von Allihn bestimmt, nach welcher im Erlenmayerschen Kolben 30 ccm schwefelsauren Kupfers, 30 ccm Seignettesalzlösung und 60 ccm vorher zum Sieden gebrachten Wassers mit 25 ccm der Zuckerlösung in Berührung gebracht und noch 2 Minuten kochend erhalten wurden. Das ausgeschiedene Kupferoxyd, das mittels einer Asbestschicht im Goochschen Platintiegel aufgefangen wird, wird nach erfolgtem Durchwaschen reduziert und als metallisches Kupfer gewogen. Aus der Tabelle wird dann die zugehörige Menge Glukose abgelesen.

Die Bestimmung der Lävulose, die in der Flüssigkeit zurückgeblieben ist, erfolgte nach der Methode Lehmanns. In dem Erlenmayerschen Kolben wurden 25 ccm Kupferlösung (69,278 g umkristallisiertes $CuSO_4$ in 1000 ccm Wasser), 25 ccm alkalische Seignettesalzlösung (346 g Seignettesalz, 250 g Natriumhydrat in 1000 ccm Wasser) und 50 ccm Wasser abgemessen. Das hier angeführte Gemisch wurde zum Kochen gebracht und in langem Strahl in dieselbe eine 25 ccm betragende Zuckerlösung eingeleitet und das Gemisch noch durch 15 Minuten siedend erhalten. Mit dem ausgeschiedenen Kupferoxyd wurde wie bei der Bestimmung der Glukose verfahren. In den von Lehmann[1]) ausgearbeiteten Tabellen wurde das zugehörige Quantum Lävulose abgelesen.

In jenen Fällen, wo weniger als 10 mg Kupfer ermittelt wurden, haben

---

1) Zeitschrift des Vereins der Rübenzuckerindustrie. 1884. p. 993.

wir die Menge der Lävulose, welche dem ausgeschiedenen Kupferoxyd entsprach, nach der Gleichung

$$y = 1{,}08 + 1{,}9674\ x - 0{,}001054\ x^2$$

berechnet[1]).

Die Analyse der Galaktose wurde nach der Methode Steigers durchgeführt, die eine einigermaßen abweichende Lösung zur Zuckerreduktion erfordert. Diese Lösung besteht aus:

a) einer Kupferlösung (34,64 g umkristallisierten $CuSO_4$ in 500 ccm Wassers);

b) einer Seignettesalzlösung (173 g Seignettesalz in 400 ccm Wassers);

c) Natronlauge (500 g NaOH in 1000 ccm Wassers).

Gearbeitet wurde in folgender Weise:

80 ccm der Flüssigkeit b,
200 ccm der Flüssigkeit c und
100 ccm der Flüssigkeit a wurden gemengt.

Von dieser Lösung wurden 60 ccm genommen und im Erlenmayerschen Kolben mit 60 ccm Wassers gemengt, zu welchem Gemenge 25 ccm Zuckerlösung hinzugefügt wurden, worauf das Ganze durch 4 Minuten verkocht worden ist. Das ausgeschiedene Kupferoxyd wurde reduziert und abermals als metallisches Kupfer abgewogen.

Nachdem die Steigerschen Tabellen nicht vollständig sind, war es manchmal notwendig, zwischen den beiden nächsten Wertangaben derselben eine Interpollation zu benützen.

Die Bestimmung der Pentosen erfolgte nach der Phloroglucin-Methode und es wurde in der Weise vorgegangen, daß die aus der ursprünglichen Flüssigkeit von 2000 ccm abgemessenen 75 ccm mit 25 ccm Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,19) in dem Kolben gemengt wurden, wodurch wir die zur Destillation erforderliche Konzentration der Salzsäure (1,06 = 12 Proz.) sowie die erforderliche Menge von 100 ccm erreichten. Die Destillation wurde unter Anwendung eines automatischen Apparates zur Bestimmung der Pentosen unter fortwährender automatischer Zufuhr von 30 ccm Salzsäure (spezifisches Gewicht = 1,06) nach vorheriger Abdestillation desselben Quantums von 30 ccm durchgeführt.

Die Methode unseres weiteren Vorgehens werden wir hier des näheren nicht ausführen; wir verweisen diesbezüglich auf die Arbeit „Ueber die Verbreitung und biologische Bedeutung der Furfuroide im Boden“ (I. Abhandlung von Julius Stoklasa, Sitzungsberichte der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, mathem.-naturwissenschaftliche Klasse, Bd. C. Abt. VII. 1. Oktober 1898), wo diese Methoden ausführlich behandelt wurden.

Es versteht sich allerdings von selbst, daß die Ziffern, welche die Menge des restlichen Kohlenhydrats angeben, sich auf die Quanten beziehen, welche durch die Analyse der Kontrollkolben gefunden wurden, nach welchen dann der Verlust an Kohlenhydraten nach dem Versuche berechnet wurde. Wichtig ist dies besonders bei gewissen Kohlenhydraten, welche durch die Sterilisation Veränderungen erfahren, und deren ursprünglich benützte und abgewogene Menge durch die Sterilisation, d. i. durch die Zersetzung, bedeutend sinkt, wie dies z. B. bei Xylose der Fall ist.

Wie bereits früher erwähnt worden, ist es möglich, die genannten Mikrobenarten, deren Einfluß auf die Zersetzung der Nitrate studiert

1) Šulc, Ot., Zeitschrift für Zuckerrübenindustrie in Böhmen. Bd. XIX. p. 316.

wurde, in zwei besondere Gruppen zu unterscheiden, und zwar in eine Gruppe von Mikroben, welche, vermöge ihrer Fähigkeit, den Nitratstickstoff allmählich in Ammoniak zu überführen — die Gruppe der Ammonisationsbakterien heißen und in eine zweite Gruppe, deren Repräsentanten eine tiefergehende Zersetzung des Nitrats einleiten, indem sie aus demselben die einfachste Form — den elementaren Stickstoff — frei machen, die Gruppe der Denitrifikationsbakterien darstellen.

Verfolgen wir nun den Prozeß der Umwandlung der Nitrate durch Bakterien bei der ersten Gruppe, d. h. durch Ammonisationsbakterien, so erkennen wir, daß es sich hier um eine stufenweise Reduktion der Nitrate in Nitrite handelt, welche durch weitere Umwandlung in Ammoniak übergehen.

Diesen Prozeß können wir durch den Abbau der Kohlenhydrate oder der organischen Säuren erklären, welcher durch den Einfluß der Atmungsenzyme vor sich geht.

Bei der Atmung der Bakterienzelle im geeigneten Nährmedium geht der Abbau gewisser Kohlenhydrate und organischer Säuren bis auf den Wasserstoff und das Kohlendioxyd, wobei der Wasserstoff in statu nascendi die Nitrate in Nitrite reduziert und dieser selbst zu Wasser oxydiert wird.

Es ist auch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß sich eine so große Menge von Wasserstoff bildet, daß sie schon hinreicht, auch die Nitrite in Ammoniak überzuführen. Weiter können wir uns auch vorstellen, daß der Prozeß in nachstehender Form verläuft:

Ein Molekül Alkohol, das Produkt der anaëroben Atmung, welch letztere sich in jeder Zelle als der primäre Vorgang der normalen Atmung abspielt, wirkt auf ein Molekül des Nitritstickstoffs, wodurch Ammoniak gebildet wird; es ist dies der Ammonisationsprozeß des Nitrats, resp. Nitrits, welcher sich durch folgende Gleichung darstellen läßt:

$$C_2H_6O + N_2O_3 = 2\ CO_2 + 2NH_3$$ [1]).

Die Intensität dieser Umwandlung ist nicht nur durch die Art der

---

1) Am schwierigsten gestaltet sich die Bestimmung des Ammoniakstickstoffs neben den Amiden und Aminen. Wenn dieselbe auch auf den ersten Blick sehr einfach zu sein scheint, so bieten dennoch die verschiedenen, bisnun verfügbaren Methoden sehr differierende Resultate. Die richtigsten unter ihnen sollen nach der von Krüger und Reich modifizierten Methode Wursters, welcher zufolge die das Ammoniak enthaltende Lösung im Vakuum unter Hinzugabe von Alkohol destilliert wird, erzielt worden sein; es tritt jedoch auch bei manchen stickstoffhaltigen Substanzen eine Abspaltung von Ammoniak ein, wie von Schittenhelm (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXIX. Heft 1—73) bewiesen wurde.

Diese Abspaltung von Ammoniak von den stickstoffhaltigen Substanzen läßt sich umsomehr vorraussetzen und giebt ein umso ungenaueres Resultat, wenn wir die Methode Longis (L. V. St. 32, 15) benützen, welcher sich zur Austreibung von Ammoniak der Magnesia bei einer Temperatur von 38—40° C bedient.

Da nun ferner der Stickstoff in Form von Amiden bei der Mehrzahl von Bakterien in bedeutendem Maße vertreten war, so ist dadurch auch die größere oder geringere Menge des durch Destillation mit MgO erzeugten Stickstoffs in Form von NH_3 erklärlich. Des Vergleichs halber sind in den zugehörigen Uebersichtstabellen die Resultate der Destillation mit Magnesia und Natronlauge angegeben. Nebstdem sind auch ganz besonders die Resultate des gebildeten Stickstoffs in Form von Ammoniak nach der Methode von Baumann-Böhmer (Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1898, p. 106), welche in manchen Fällen die gleichen Resultate, mitunter auch höhere, geliefert hat, wie die Destillation mit MgO angeführt (Zusatz zur Tabelle I und III).

Mikroben bedingt, sondern auch durch das Nährmedium, wie aus den Versuchsresultaten ersichtlich ist.

Betrachten wir die Hexosen und von diesen zunächst die Glukose (Tab. I), so erweisen sich ausschließlich als Ammonisationsbakterien: Proteus vulgaris, Proteus Zenkeri, Bac. ramosus n. liquefaciens, Bac. mycoides, Bac. subtilis, Bac. megatherium, Clostridium gelatinosum, von denen speciell Bac. mycoides und die letztere Species von Bakterien in ihrer Wirkung als Ammonisationsbakterien in diesem Milieu die wirksamsten zu sein scheinen, indem Bac. mycoides 20,69 Proz. des gesamten, in den Nitraten enthaltenen Stickstoffs in Form von Ammoniak überführt. Der Reihe nach folgt das Clostridium gelatinosum, welches 14,48 Proz. Ammoniakstickstoff gebildet hat, dann Proteus Zenkeri mit 13,10 Proz., Bac. megatherium mit 8,62 Proz., Bac. ramosus n. liquefaciens mit 3,27 Proz., Proteus vulgaris mit 2,79 Proz. und Bac. subtilis mit nur 2,41 Proz.

Einen minder günstigen Einfluß auf die Ammonisation des Nitrats schien die Lävulose (Tabelle II) zu haben, in welcher der Bac. subtilis am intensivsten das Nitrat ammonisierte, obzwar er nur 6,55 Proz. Salpeterstickstoff in die Ammoniakform überführte; etwas schwächer erwiesen sich schon in ihrer Wirkung Bac. mesentericus vulgatus mit 5,17 Proz., Bac. megatherium mit 3,45 Proz., Proteus vulgaris mit 2,79 Proz., Bac. ramosus n. liquefaciens mit 2,59 Proz. und als schwächste Ammonisationsbakterie, was, mit Bezug auf das eben geschilderte Verhalten der Glukose, von besonderem Interesse ist, erscheint der Bac. mycoides, welcher nur 1,9 Proz. Stickstoff in Form von Ammoniak gebildet hat. Auffallend ist, daß der Proteus Zenkeri überhaupt keinen Stickstoff aus dem Nitrat in Ammoniak übergeführt hat, während er doch in der Glukose in seiner Wirkung an dritter Stelle stand.

In der Galaktose (Tabelle III) nimmt wiederum als Ammonisationsbakterie der Bac. subtilis den ersten Platz ein. Er verwandelte 6,22 Proz. Stickstoff aus dem Nitrate in Ammoniak, also beinahe dieselbe Menge, wie in der Lävulose. (Nach der Baumann-Böhmerschen Methode 5,17 Proz.) Dann folgt, der Ammonisationspotenz nach, der Bac. mesentericus vulgatus mit 5,52 Proz., Proteus vulgaris mit 2,70 Proz. und Bac. mycoides mit 1,72 Proz.

Das geeignetste Medium nach der Glukose scheint, den von uns gemachten Versuchen zufolge, unter den Pentosen die Arabinose für die Ammonisationsprozesse zu sein (Tabelle IV). Eine besonders hervorragende Ammonisationstätigkeit entfaltet das Clostridium gelatinosum, durch welches 45,55 Proz., also um ein Geringes weniger als die Hälfte des gesamten, in den Nitraten enthaltenen Stickstoffs beträgt, in Ammoniak übergeführt wurde. Sowie in den vorerwähnten Hexosen Lävulose und Galaktose der B. subtilis die größte Intensität in der Transformierung des Nitratstickstoffs in Ammoniak zeigte, so gebührt auch wieder in der Arabinose dieser Mikrobenart der Platz sofort nach dem Clostridium gelatinosum, was seine Ammonisationsfähigkeit anbelangt, welche 12,24 Proz. des Stickstoffs aus dem Nitrat in Ammoniak verwandelte.

Die mit dem Bac. prodigiosus in einem, nur das Nitrat und die

Arabinose enthaltenden Medium angestellten Versuche ergaben die Fähigkeit desselben, den in den Nitraten enthaltenen Stickstoff ebenfalls zu Ammoniak umzuwandeln, und zwar betrug in unserem Falle die von dem Gesamtstickstoff umgewandelte Menge 4,13 Proz. Eine geringere Intensität der Ammonisation in der Arabinose zeigt der Bac. mesentericus vulgatus, welcher 3,44 Proz, des Gesamtstickstoffs in die Form von Ammoniak transformierte, dann folgen der Proteus Zenkeri mit 2,24 Proz. und der Bac. mycoides mit nur 1,91 Proz.

In einem Nährmedium, welches als Kohlenstoffnährquelle die Xylose (Tabelle V) und den Nitratstickstoff enthält, legen die genannten Mikrobenarten eine geringere Fähigkeit, den Nitratstickstoff zu ammonisieren, an den Tag, als wir es in der Arabinose wahrnahmen.

Die intensivste Ammonisationstätigkeit in einem, Xylose enthaltenden Nährmedium zeigte das Clostridium gelatinosum. Diese Mikrobenart, welche überhaupt eine bedeutende Ammonisationspotenz in der Ueberführung des Nitratstickstoffs in Ammoniak zeigte, ammonisierte in diesem Medium 9,68 Proz. des Natriumnitratstickstoffs. Der Bac. subtilis zeigt in der Xylose annähernd die gleiche Intensität, wie in den früheren Medien, durch welche 8,11 Proz. Stickstoff in Ammoniak übergingen. In geringerem Maße wurde der Nitratstickstoff von Bac. ramosus n. liquefaciens und Bac. prodigiosus, von ersterem 2,79 Proz., von letzterem 2,58 Proz. ammonisiert.

Neutralisierte organische Säuren, welche, wie wir später sehen werden, einen überaus günstigen Einfluß auf die Denitrifikationsprozesse der zugehörigen Mikrobenarten ausübten, ergaben für die Ammonisationsarten kein besseres Medium als die Kohlehydrate, ja man kann sagen, sogar ein minder günstiges, wie z. B. die Valeriansäure und die Bernsteinsäure. Den verhältnismäßig günstigsten Einfluß scheint die Milchsäure (Tabelle VI) zu haben, in welcher der Bac. ramosus n. liquefaciens 24,14 Proz. Nitratstickstoff in Ammoniakstickstoff überführte. In gleichem Maße wurde in derselben der Nitratstickstoff vom Proteus Zenkeri und Bac. subtilis ammonisiert. Durch jede dieser Bakterienarten wurden 6,99 Proz. Stickstoff umgewandelt. Deutlich tritt hier sowie in den folgenden organischen Säuren die Ammonisationsintensität des Bac. megatherium, welcher 8,62 Proz. Nitratstickstoff ammonisierte, in den Vordergrund.

Die Valeriansäure (Tabelle VII) scheint das geeignetste Medium für die Ammonisationsprozesse des Bac. megatherium zu sein, welcher 10,35 Proz. des in dem Natriumnitrat enthaltenen Stickstoffs in Ammoniak reduziert. Proteus Zenkeri und Bac. subtilis brachten die gleiche Metamorphose zuwege, freilich in geringerem Maße, bei 1,72 Proz. Nitratstickstoff.

Einigermaßen abweichende Resultate wurden in den Ammonisationsprozessen der angeführten Mikroben erzielt, falls als kohlenstoffhaltiges Nährmedium neutralisierte Bernsteinsäure (Tabelle VIII) verwendet wurde. Bac. megatherium überwiegt durch seine Ammonisationstätigkeit, mittels welcher er 10,34 Proz. Nitratstickstoff zu Ammoniak reduzierte, also dieselbe Menge, wie in der Valeriansäure. Von den übrigen Bakterien zeigte nur der Bac. mesentericus vulgatus eine merklichere Potenz. Er reduzierte 7,76 Proz. Nitratstickstoff in Ammoniakstickstoff. Der Bac. subtilis ammonisierte, wenn auch in geringerem Maße, dennoch 3,45 Proz. Nitratstickstoff.

Clostridium gelatinosum, das überhaupt als charakteristischer Typus der ammonisierenden Mikroben angesehen werden kann, erwies sich besonders als solcher bei den stattgehabten Versuchen in einem Medium, das als Kohlenstoffnährmaterial Saccharose bei Anwesenheit von Natriumnitrat (Tabelle IX) enthält.

Abgesehen davon, daß bei diesen Versuchen (1. und 2.) die Anwesenheit des Calciumkarbonats, dessen Einfluß auf die Ammonisations- und Denitrifikationsprozesse studiert werden sollte, sicherlich zum großen Teil jene Stickstoffverluste verschuldete, welche durchschnittlich 34,21 Proz. betragen, so wurden dennoch im ersten Falle 27,19 Proz. Stickstoff in Form von durch die Lebensprozesse des genannten Mikroben gebildeten Ammoniaks, im zweiten Falle 25,63 Proz. konstatiert. Fast der gesamte Nitratstickstoff wurde einerseits in Ammoniak, andererseits in Form von Eiweißstoffen, welche durchschnittlich in beiden Versuchen 25,27 Proz. des Gesamtstickstoffs enthielten, überführt.

Mit den wachsenden Quantitäten der Kohlenstoffquellen (in Form von Kohlenhydraten oder organischen Säuren) und den entsprechenden Mengen von Salpeterstickstoff wächst im proportionalen Verhältnisse die Bildung von Ammoniak und Eiweißstickstoff, freilich nur bis zu einem gewissen Grade, wie aus den Versuchen mit Clostridium gelatinosum (3. und 4.), bei welchen $^1/_{10}$ des Molekulargewichtes der Saccharose und $^1/_{10}$ des Molekulargewichtes des Natriumnitrats verwendet wurden, hervorgeht. Durch die Methode von Bosshard wurden im ganzen 27,39 Proz. Stickstoff in Form von Ammoniak festgestellt (Durchschnitt beider Versuche). Die Menge des entstandenen Einweißstickstoffs beträgt freilich nur 10,9 Proz., doch es muß erwogen werden, daß 58,52 Proz. Stickstoff in Form von Nitriten und Nitraten noch übrig blieben, welche von Clostridium gelatinosum in der zwar verhältnismäßig kürzeren Zeit nicht reduziert wurden, gegenüber der übriggebliebenen Menge in der analogen Form der Versuche 1 und 2, welche 14,47 Proz. betragen hat.

Die Denitrifikationsbakterien und zwar Bact. Hartlebi, Bac. fluorescens liquefaciens, Bact. pyocyaneum, Bact. Stutzeri, Bact. filefaciens, Bac. denitrificans, Bact. coli commune, Bact. nitrovorum und Bac. typhi abdominalis zersetzen das Nitratmolekül viel intensiver, besonders wenn sich die Mikroben dieser Gruppe in einem für sie geeigneten kohlenstoffhaltigen Nährmedium befinden.

Es reduzieren nämlich bekanntlich diese Arten von Mikroben zum größten Teil den Nitratstickstoff in elementare Form und verwenden verhältnismäßig nur einen geringen Teil desselben zum Aufbau ihres Eiweißmoleküls. Eine Vorstellung dieser Reduktion können wir uns machen, wenn wir voraussetzen, daß ein Molekül des durch anaërobe Atmung der Mikrobenzelle gebildeten Alkohols auf 2 Moleküle der durch die Reduktion der Salpetersäure entstandenen salpetrigen Säure in statu nascendi wirkt, nach der Gleichung:

$$C_2H_6O + 2\,N_2O_3 = 2\,CO_2 + 4\,N + 3\,H_2O.$$

Es ließe sich vorraussetzen, daß das geeignetste Nährmedium für diese Denitrifikationsprozesse die Kohlenhydrate resp. die Hexosen seien. Wie jedoch aus den Resultaten ersichtlich ist, zeigt nur die Glukose (Tabelle I) einen einigermaßen günstigeren Einfluß, und das auch nur bei den ersten drei angeführten Arten, nämlich bei: Bact. Hartlebi, Bac. fluorescens liquefaciens und Bact. pyocyaneum auf

die Zersetzung des Nitrats durch Denitrifikationsmikroben. Besonders hervorgehoben zu werden verdient, daß Bact. Hartlebi, welcher im ganzen 93,97 Proz. Stickstoff aus dem Natriumnitrat binnen 30 Tagen in die freie Form überführte, nur 6,03 Proz. zur Bildung seiner lebenden Materie des Moleküls aufwendete. Die Menge des zum Aufbau der Eiweißstoffe von Mikroben nötigen Stickstoffes stieg beim Bac. fluorescens liquefaciens und Bact. pyocyaneum, dafür sank jedoch die Menge des frei gewordenen elementaren, im Nitrat enthaltenen Stickstoffs. Bac. fluorescens liquefaciens zersetzte zwar in derselben Zeit wie Bact. Hartlebi das Nitrat, es entwichen jedoch nur 84,48 Proz. freien Stickstoffs; analytisch wurden 15,52 Proz. des in die organische Form veränderten Stickstoffs konstatiert. Das Nährmedium für Bact. pyocyaneum enthält in einer verhältnismäßig längeren Zeit (44 Tage) noch 5,17 Proz. Stickstoff in Form von nicht zersetzten Nitraten und Nitriten, wobei es 82,76 Proz. Stickstoff aus dem Nitrat entband. Von den übrigen Mikrobenarten besitzt nur das Bact. centropunctatum die Fähigkeit, in einem nur aus Glukose und Nitrat bestehenden Medium das Nitrat zu zersetzen, freilich in einem geringeren Maße; denn die Verluste an aus dem Nitrate freigewordenen Stickstoff betragen 5,17 Proz.

Die Intensität der Lebensenergie, das Nitrat zu zersetzen und aus demselben den Stickstoff in freiem Zustande auszuscheiden, sinkt schon in einem Nährmedium, welches Lävulose enthält (Tabelle II). Hier ist wiederum dem Bact. Hartlebi der erste Platz einzuräumen, denn durch seine Tätigkeit führte es einen Verlust von 87,59 Proz. an dem im Natriumnitrat enthaltenen Stickstoff herbei, im Gegensatze zu 57,76 Proz., welche der Bac. fluorescens liquefaciens und 71,55 Proz., welche das Bact. pyocyaneum erzielt haben. Zu dem Bact. centropunctatum; welches 4,31 Proz. Stickstoff in elementarer Form frei machte, gesellt sich das Bact. nitrovorum, welches einen Verlust von 5,17 Proz. Stickstoff aufweist, der aus dem Nitrat in freier Form ausgeschieden wurde.

Interessant ist beim Bact. Hartlebi, daß, wie aus den angeführten Resultaten ersichtlich ist, in diesem Kohlenhydrat die Menge des in organischer Form vertretenen Stickstoffs stieg und demzufolge freilich die durch Freimachung des elementaren Stickstoffs aus dem Nitrat entstandenen Verluste sanken.

Während in der Glukose das Bact. Hartlebi 6,03 Proz. Stickstoff in organische Form gebunden hat, stieg in der Lävulose diese Menge auf 12,41 Proz., also gerade auf die zweifache Menge, wie es auch in der Galaktose der Fall ist (Tabelle III), welche jedoch keineswegs ein geeignetes Medium für die Denitrifikationsprozesse der Mikroben zu sein scheint. Das Bact. Hartlebi konnte in derselben nicht einmal nach 42 Tagen das gesamte Nitrat zersetzen, welches noch in Form von Nitrit und Nitrat im Betrage von 11,21 Proz. übrig geblieben war, so daß nur 74,66 Proz. Stickstoff in elementarer Form verloren gingen. Die Denitrifikationsintensität sank auch bedeutend beim Bac. fluorescens liquefaciens und beim Bac. pyocyaneum, von denen das erste 37,93 Proz. Stickstoffverluste aufweist, das letztere nur 20,59 Proz. Kleine Verluste zeigen auch das Bact. Stutzeri, Bact. nitrovorum, der Bac. denitrificans gemeinsam mit dem Bact. coli commune, durch deren gemeinschaftliche Tätigkeit 5,43 Proz. Stickstoff aus dem Nitrat entbunden wurden.

Die Pentosen gehören vermöge ihrer Konfiguration,

wie unsere Versuche lehren, überhaupt nicht zu den besonders guten Medien für Denitrifikationsprozesse, welche von den genannten Mikrobenarten in einem geeigneten Medium bei Anwesenheit von Nitraten injiziert werden können.

Im großen und ganzen verdient nur das Bact. Hartlebi erwähnt zu werden, welches in der Arabinose (Tabelle IV) ein auffallendes Steigen des organischen Stickstoffs im Nährmedium zeigt, von dem durch die Analyse 33,62 Proz. konstatiert wurden; dadurch freilich wurden die Verluste des Stickstoffs geringer, welcher in elementarer Form entwich. Beim Bac. fluorescens liquefaciens sank der Verlust an Gesamtstickstoff auf 7,08 Proz., was für die Bodenbiologie äußerst interessant und wichtig ist.

Die Xylose (Tabelle V) bot dem Bact. Hartlebi ein einigermaßen günstigeres Medium für die Zersetzung des Nitrats, aus welchem es 83,38 Proz. Stickstoff in freiem Zustande ausschied. Für die übrigen Arten der Denitrifikationsmikroben jedoch schien diese Form der Pentosen ein absolut ungeeignetes Medium zu sein, wie aus den angegebenen Resultaten ersichtlich ist.

Charakteristisch sind die neutralisierten organischen Säuren, welche unseren Versuchen gemäß, der Mehrzahl nach, das geeignetste Medium bei der Zersetzung des Nitrats, die durch die denitrifizierende Mikrobengruppe bewirkt wurde, sind.

Besonders hervorzuheben ist die Valeriansäure (Tabelle VII). In dieser haben alle Arten der angeführten Mikroben, nämlich: Bact. Hartlebi, Bact. fluorescens liquefaciens, Bact. pyocyaneum, Bact. Stutzeri, Bact. centropunctatum, Bact. nitrovorum aus dem Natriumnitrat vom Gesamtstickstoff 81,21 bis 91,38 Proz. entbunden. Das Maximum erreichte wiederum das Bact. Hartlebi mit 91,38 Proz. Bac. fluorescens liquefaciens weist dadurch, daß er verhältnismäßig am meisten organischen Stickstoff, nämlich 0,0588 g produzierte, welches Quantum 18,11 Proz. des im Nährmedium enthaltenen Gesamtstickstoffes entspricht, verhältnismäßig auch die geringsten Verluste, und zwar 81,89 Proz., auf.

In nicht geringerem Maße gewährte die Bernsteinsäure (Tabelle VIII) den beschriebenen Denitrifikationsmikroben ein geeignetes Nährmedium für ihre Vitalprozesse, durch welche der Nitratstickstoff in elementarer Form frei wird. Bac. nitrovorum und Bact. coli commune reduzierten gemeinsam mit Bac. denitrificans mehr als 90 Proz. Nitratstickstoff in elementarer Form. Die übrigen Arten verhalten sich in ihrer Intensität, die Nitrate zu zersetzen und aus denselben den elementaren Stickstoff frei zu machen, in diesem Medium wie in der Valeriansäure. Nur Bac. fluorescens liquefaciens zeigt eine einigermaßen geringere Aktivität, denn er hinterließ nach Beendigung des Versuches (30 Tage) noch 12,07 Proz. Stickstoff in Form von nicht zersetztem Nitrit und Nitrat in der Lösung. Dadurch sank freilich die Menge des entwickelten Stickstoffs, als solchem, auf 72,41 Proz.

Die Milchsäure (Tabelle VI) kann als ein ganz besonders geeignetes Medium für den Aufbau des lebenden Moleküls der Denitrifikationsmikroben angesehen werden. Obzwar alle diese Arten

außer Bac. fluorescens liquefaciens und Bact. centropunctatum auch in diesem Medium das hinzugefügte Natriumnitrat zersetzten, so sind doch durch die Freimachung des Stickstoffs die Verluste geringer als in der Valerian- und Bernsteinsäure, weil sie viel mehr desselben für die Synthese des Eiweißmoleküls ihres Körpers aufwendeten. Nur der Bac. denitrificans in Gemeinschaft mit Bact. coli commune überführten, den angestellten Analysen gemäß, 91,38 Proz. Nitratstickstoffs in die freie Form. Bac. fluorescens liquefaciens und Bact. centropunctatum hinterließen, der erstere nach 30 Tagen 8,62 Proz. und das letztere noch nach 56 Tagen 12,07 Proz. Stickstoff in dem zurückgebliebenen, nicht zersetzten Nitrit und Nitrat; folglich sind auch die Gesamtverluste des Stickstoffs geringer: beim Bac. fluorescens liquefaciens 75,86 Proz. und beim Bact. centropunctatum 70,69 Proz. Bact. Stutzeri und Bact. nitrovorum zeichnen sich in der Milchsäure durch dieselbe Denitrifikationsintensität aus. Diese beiden Arten zersetzen vollständig das in der Lösung enthaltene Nitrat, aus welchem in beiden Fällen 79,31 Proz. freien Stickstoffs entwich. Bact. Hartlebi und Bact. pyocyaneum weisen annähernd die gleichen Verluste an Stickstoff auf. Der erstere 86,21 Proz., der zweite 87,93 Proz. des Gesamtstickstoffs im Nährmedium.

Von den übrigen organischen Säuren wurden zu den Versuchen noch die Aepfel- und die Weinsäure gewählt (Tabelle X). Es zeigte sich jedoch, daß diese gegenüber den früher genannten organischen Säuren kein so geeignetes Nährmedium, und zwar nicht einmal für das so aktive Bact. Hartlebi darstellen, denn es blieben noch nach 44 Tagen in der Aepfelsäure 31,03 Proz. Stickstoff in Form von unzersetztem Nitrit und Natriumnitrat vorhanden und der Gesamtverlust betrug nach der angegebenen Dauer 56,87 Proz., in der Weinsäure belief sich dieser Verlust aber nur auf 36,2 Proz.

Aus den angeführten Versuchen ist klar, daß die erste Stelle bezüglich der Denitrifikationsintensität in allen Medien, ob sie nun Kohlenhydrate oder neutralisierte organische Säuren enthalten, namentlich dem Bact. Hartlebi gebührt, während andererseits das Clostridium gelatinosum in der Gruppe der Ammonisationsmikroben diesen Platz einnimmt. Das Bact. Hartlebi ist gleichsam der Repräsentant der von uns gewählten Denitrifikanten und gerade deshalb wurde es für das weitere Studium gewählt, wodurch die verschiedenen Einflüsse auf dessen Vitalprozesse erforscht werden sollten.

In erster Linie handelte es sich darum, den Einfluß der am häufigsten vorkommenden Kohlenhydrate auf die durch den genannten Mikroben, d. i. das Bact. Hartlebi, bewirkte Zersetzung des Natriumnitrats (Tabelle XI) zu erkennen; diese Versuche wurden in fünf Kolben von ungefähr 10 l Rauminhalt ausgeführt, in denen sich nur 1000 ccm Nährlösung befanden; also in einer niedrigeren Flüssigkeitsschichte als bei den vorangegangenen Versuchen, wo Kolben von ca. 2 l verwendet wurden, damit auch der Einfluß einer größeren Menge von Luft resp. Sauerstoff verfolgt werden könne.

Die angestellten Versuche belehrten uns jedoch, daß derselbe Prozeß, in Bezug auf die Intensität, den früheren Versuchen ähnlich verlief. Die Zersetzung des Nitrats war hier freilich keine vollkommene, weil die Analysen nach 6 bis inkl. 9 Tagen ausgeführt wurden, in welcher Zeit immer die intensivste Gärung beendet war. In 6 Tagen

vergor das Bact. Hartlebi 2 g Natriumnitrat, welches 0,3248 g Stickstoff in einem Saccharose (Versuch 6) enthaltenden Nährmedium enthielt. Dabei entwichen an freiem Stickstoff 84,48 Proz. und die restrierenden 15,52 Proz. wurden vom Bact. Hartlebi zur Bildung von Eiweiß verarbeitet.

Auch die Laktose (Versuch 7) erwies sich als ein gutes kohlenstoffhaltiges Nährmedium für die Denitrifikationstätigkeit des Bact. Hartlebi. Eine nur verhältnismäßig geringe Menge (5,17 Proz.) Stickstoff blieb noch in dem nicht zersetzten Nitrite und Nitrate übrig, während 77,15 Proz. als elementarer Stickstoff entwichen. Subtrahieren wir den in den Nitriten und Nitraten übriggebliebenen Stickstoff von der Gesamtmenge des durch die Analyse gewonnenen Stickstoffs, so zeigt sich uns die übriggebliebene Menge desselben in der gebildeten organischen Materie fast ebenso groß, wie bei der Saccharose.

Als schlechtes Nährmedium erwies sich, wenn wir die gleiche Zeit von 6 Tagen für die Dauer dieser Versuche zu Grunde legen, die Lävulose (Versuch 2) gegenüber der Glukose und Galaktose, in welcher das Bact. Hartlebi nur 58,62 Proz. Sticktoff aus dem Nitrate vergor, gegenüber 72,41 Proz. in der Glukose und 71,55 Proz. in der Galaktose.

Daß die Arabinose als Nährmedium für die Denitrifikationsprozesse schlecht geeignet ist, bestätigen wieder die angestellten Versuche. In 9 Tagen zersetzte das Bact. Hartlebi nur die Hälfte des Nitrats, aus dem 50 Proz. freien Stickstoffs entwichen.

Die Xylose bekundete bei diesen Versuchen einen einigermaßen günstigeren Einfluß auf die zersetzende Tätigkeit des Bact. Hartlebi im Nitrate, aus welchem dieser Mikrobe 69,82 Proz. Stickstoff entwickelte.

Die Versuche gestatteten den Schluß, daß der Zutritt einer größeren Menge von Luft resp. Sauerstoff keinen bedingungslosen Einfluß auf die Hemmung der Denitrifikationsprozesse des Bact. Hartlebi ausübt, was auch durch die späteren Versuche bestätigt wurde [1]).

Durch die Lösung von 1000 ccm, welche 2 g Glukose, 2 g Natriumnitrats, 100 ccm anorganischer Nährsubstanzen von bereits früher angegebener Zusammensetzung enthielt und sich in einem Kolben von 2000 ccm befand, wurde durch 9 Tage sterile Luft (Tabelle XIII, 1) hindurchgetrieben. Wenn auch die Nitratzersetzung langsam vor sich ging, weil die Gärung durch die hindurchgetriebene Luft gestört wurde, trat sie dennoch ein und schon in der oben angegebenen Zeit zeigte sich ein Verlust von 29,31 Proz. Stickstoff aus dem Nitrate. Wie bemerkt, geht die Zersetzung des Nitrats in diesen Fällen viel langsamer vor sich, was die Versuche in eigens zu diesem Zwecke nach dem Modell Fernbach konstruierten Kolben bestätigten. In diesen läßt sich durch eine sehr niedrige Schicht der Nährflüssigkeit eine vollkommene Aërobiose erzielen (Tabelle XII, Versuch 2 und 3).

1) Es würde zu weit führen, alle Versuche über den Einfluß des Sauerstoffs resp. der Luft auf die Denitrifikationsprozesse hier zu zitieren. Fast alle Forscher, die sich mit der Denitrifikationsfrage befaßten, verfolgten auch gleichzeitig den Einfluß des Sauerstoffs auf den Verlauf der Denitrifikationsprozesse. Aus gewissen Versuchen könnte man deduzieren, daß die Abwesenheit des Sauerstoffs günstiger auf die Denitrifikationsprozesse einwirkt, während der Ueberschuß desselben diese beschränkt, ja sogar zum Stillstehen bringt. Ueber den Einfluß des Sauerstoffs auf die Denitrifikationsvorgänge wird in einer unserer nächsten Arbeiten über die aërobe und anaërobe Atmung der Denitrifikationsbakterien ausführlich berichtet werden.

Die 1000 ccm umfassende Lösung, welche 2 g Glukose, 2 g Natriumnitrats in diesem kegelförmigen, mit großer Grundfläche versehenen Kolben (der Durchmesser am Boden betrug 40 cm) enthielt, bildete eine Schichte von nur einigen Millimetern Höhe. Bei dem einen der Versuche wurde durch die Seitenöffnungen des Kolbens täglich sterile Luft hindurchgetrieben, und zwar nur so, daß die Luft über das Niveau der Flüssigkeit strich, während der andere Kolben ruhig stehen gelassen wurde. Auf diese Weise war es möglich, einen hinreichenden Sauerstoffzutritt zur Nährflüssigkeit herzustellen, welcher noch dadurch unterstützt wurde, daß täglich die bei der Gärung sich entwickelnden Gase durch Absaugen entfernt wurden. Nach 17 Tagen fand man bei langsamer Gärung der Lösung, daß im ersten Falle 45,69 Proz., im zweiten 43,1 Proz. Stickstoff des Natriumnitrats in elementarer Form frei geworden waren. Es scheint, daß in diesem Falle nur durch den Mangel der Kohlenstoffnährquelle (die Saccharose war bereits gänzlich aufgebraucht) das Bact. Hartlebi die Zersetzung des Nitrats nicht beenden konnte.

Wie unsere Versuche (Tabelle XII, 4) zeigten, tritt die Nitratzersetzung auch dann ein, wenn man eine geeignete organische Stickstoffverbindung der Nährlösung hinzufügt, da die Bakterien zum Aufbau ihres Eiweißstickstoffs mit besonderem Wahlvermögen den Salpeterstickstoff jedem anderen vorziehen.

In den oben zitierten Versuchen wurden zu der Lösung von 1000 ccm, welche 100 g Saccharose und 2 g Natriumnitrats enthielt, 0,69 g Asparagin hinzugefügt. (Die Saccharose wurde also im Ueberschuß zugesetzt.) Im Laufe von 66 Tagen, in welchen bei dem ersten Versuche durch tägliches Durchsaugen die sterile Luft erneuert wurde (dieser Versuch wurde mit einem ähnlichen Kolben mit einer, dem vorangegangenen Versuche analogen Einrichtung nach Fernbach angestellt), erschien das Nitrat vollends zersetzt, so daß man auch durch die empfindlichsten qualitativen Reaktionen weder etwas von einem Nitrit, noch von einem Nitrat nachweisen konnte.

Wie bekannt, wird durch die Denitrifikationsprozesse nur der Stickstoff der Salpetersäure, welche in den Nitraten vertreten ist, frei gemacht. Diese Zersetzung tangiert aber nicht den eventuell auch vorhandenen Ammoniak in Ammoniakverbindungen, wie wir uns durch die weiteren Versuche mit Ammoniumnitrat (Tabelle XIII) überzeugt haben.

Aus dem letzteren wurde, wenn es dem Bact. Hartlebi als stickstoffhaltige Nährquelle neben der kohlenstoffhaltigen (in Form von Saccharose) geboten wurde, der Analyse zufolge, nur der Stickstoff der Salpetersäure in elementare Form übergeführt, frei, und wahrscheinlich allein zum Aufbau der Eiweißsubstanz in der lebenden Mikrobenzelle benützt, während das Ammoniak fast unberührt blieb.

Im zweiten Falle haben wir neben 2 g Saccharose 2 g Ammoniumnitrat auf 1000 ccm Nährflüssigkeit verwendet. Das Ammoniumnitrat enthielt an Gesamtstickstoff 0,6944 g. Nach beendetem Versuche waren an freiem Stickstoff entbunden 0,3584 g = 51,61 Proz. des Gesamtstickstoffs; also auch hier sehen wir ebenfalls, daß nur die Salpetersäure zersetzt worden ist.

Nicht uninteressant ist es, die Wirkung der Bakterienarten bei gleichzeitiger Impfung in dasselbe Nährmedium zu studieren und zu verfolgen, welche von beiden, ob der echte Denitrifikant, als welcher sich die Species Bact. Hartlebi gezeigt, oder der Ammoni-

sator, wie etwa Clostridium gelatinosum, der die Salpetersäure in Ammoniak überführt, von größerer Potenz ist, wie das aus der nachstehenden Tabelle XIV [1]) ersichtlich.

Wenn nun die genannte Species gleichzeitig in die Lösung von Saccharose und Natriumnitrat eingeimpft wurde, dann zeigte sich, daß das Bact. Hartlebi sofort seine denitrifizierende Tätigkeit begann und 87,23 Proz. Stickstoff aus dem Nitrate frei machte, während auf das Clostridium gelatinosum nur eine ganz geringe Menge, 1,85 Proz. Stickstoff entfielen, d. i. die durch die Tätigkeit des Clostridium gelatinosum gebildete Ammoniakmenge.

Selbst in dem Falle, wo wir dem Clostridium gelatinosum einen Vorsprung gewährten und erst nach 5—6 Tagen Bact. Hartlebi (selbstverständlich in dasselbe Medium) nachimpften, zeigte sich, daß der letztere die Tätigkeit des Ammonisators nicht nur einholte, sondern bald hinter der eigenen Wirkung zurückließ, wobei er jedoch das gebildete Ammoniak (als Stickstoffquelle) im Betrage von 22,73 Proz. des Gesamtstickstoffs (Mittel zweier Versuche) unberührt ließ, seinen Stickstoffgehalt aus dem Nitrate holte und ein weiteres Quantum desselben in elementare Form überführte. Im ersten Falle waren dies 61,40 Proz., im zweiten 63,31 Proz. an elementarem Stickstoff.

Durch die angeführten Versuche wurde erwiesen, daß eine auch im Ueberschuß vorhandene Menge Sauerstoffs keineswegs die Zersetzung des Nitrats durch denitrifizierende Prozesse beschränkt. Wir müssen dabei nochmals daran erinnern, daß die atmosphärische Luft nur bei einigen Versuchen durch die Nährflüssigkeit hindurchgetrieben wurde, während man sie bei allen übrigen an der Oberfläche streichen ließ. Durch die Zersetzung wird nur das Molekül der Salpetersäure, der Hauptfaktor des Nitrats betroffen, wovon besonders die mit Ammoniumnitrat ausgeführten Versuche Zeugnis ablegen. Durch die Denitrifikationsprozesse des Bact. Hartlebi wurde, wir wiederholen dies, der Stickstoff nur aus dem Molekül der Salpetersäure frei gemacht. Der Stickstoff aus dem Ammoniak wurde jedoch nicht in Anspruch genommen.

Um auch die Formen der stickstoffhaltigen Substanzen kennen zu lernen, welche bei den Denitrifikationsprozessen in der entstehenden Kultur sich bilden, führten wir die Analyse dieser Kultur, sowie der mit dem Bact. Hartlebi geimpften Lösung durch. Die Kultur dieses Bacillus repräsentiert stets eine zusammenhängende Haut auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit, die zur quantitativen Analyse benutzt werden konnte. Die einzelnen Formen wurden als Amid-, Mono- und Diaminostickstoff bestimmt, deren Menge sowohl in der Lösung als auch in der Kultur in der Uebersichtstabelle No. XV angegeben ist.

* * *

1) Die Impfung erfolgte immer mit denselben Mengen gleich entwickelter Kulturen, nämlich mit 5 ccm beider Mikrobenarten aus einem gleichen in dasselbe Nährmedium.

(Schluß folgt.)

The Steam Still.

By **F. C. Harrison** and **B. Barlow,**
Ontario Agricultural College and Experiment Station, Guelph, Canada.

With 3 figures.

In nearly all kinds of laboratory work, a constant and abundant supply of distilled water is necessary and, as there are already many forms of distilling apparatus on the market varying in price, design and efficiency, the publication of yet another form needs some apology.

This still was designed in part after stills in use at the Michigan Agricultur College. One essentially like it is now in use at the Ontario Agricultural College and, although smaller than the one here described, gives 24 litres of distilled water per hour; the steam pressure being about 20 pounds. It will operate at any pressure and is safe up to 40 pounds. It is quick to start, almost noiseless and requires no attention. No steam is lost in the apparatus and even the water condensed in the coil is returned to the heating system. A local tinsmith can construct it at a cost of $ 50,00 to $ 60,00 (Mark 200—240).

Materials. The walls of the boilen, condenser, storage tank, diaphragm, and the overflow pipe are all of heavy sheet copper tinlined. All joints and seams are soldered with pure tin. The feed pipes and the steam coil are of ordinary iron pipe, but if desired the coil may be tinned, although this is not necessary at it is beneath the surface of the water. The pipe carrying the distilled water is of block tin.

Construction. The parts of the still are cylindrical or conical. By reference to the figure the apparatus is seen to be in three principal parts — the boiler, diaphragm and condenser. In the plan, the condenser is shown an inch above the boiler, but in construction it rests upon the rim of the boiler.

The boiler. The boiler, B, is a cylinder 21 inches high and 3 feet in diameter. It is kept full of water to a depth of 15 inches by a constant level device which is described later. In this water is a coil of one inch pipe, s. Steam from the heating system enters this pipe, and flows through is under pressure and a return carries off the condensed water and the excess of steam. The water in the boiler B, is by this means set into rapid ebullition and the steam rising from it passes up into the condenser.

Below the drawing of the still is a ground plan of the boiler showing the disposition of the pipes forming the steam coil. The pipe passes into the boiler three inches below the water level and passes around and downward in a spiral manner and out close to the bottom. In all there are 15 lengths of pipe, making four complete rounds and so distributed as to heat the water evenly. Each line in the ground plan represents the length of a pipe with its fittings. There are only four different lengths of pipe, exclusive of the curved piece. There are, however, two short pieces with straight fittings on each side where the two pipes pass through the wall of the boiler, so that the whole coil can be readily detached and removed from the boiler in case it is necessary to change the pipe or to remove the boiler scale.

The diaphragm. The diaphragm is of sheet copper with the tinned side upward. It is conical, rising at an angle of 10° to the horizontal, and has a circular opening in the centre through which the

steam from the boiling water passes up into the condenser. The outer rim of the diaphragm bears a flange which rises at right angles to the surface of the diaphragm forming a catch-basin to receive the distilled water as it condenses and drips from the lowest angle of the condenser. This flange is pierced by a tinned copper pipe about $^1/_2$ inch in diameter and long enough to reach out through a circular hole in the boiler. A

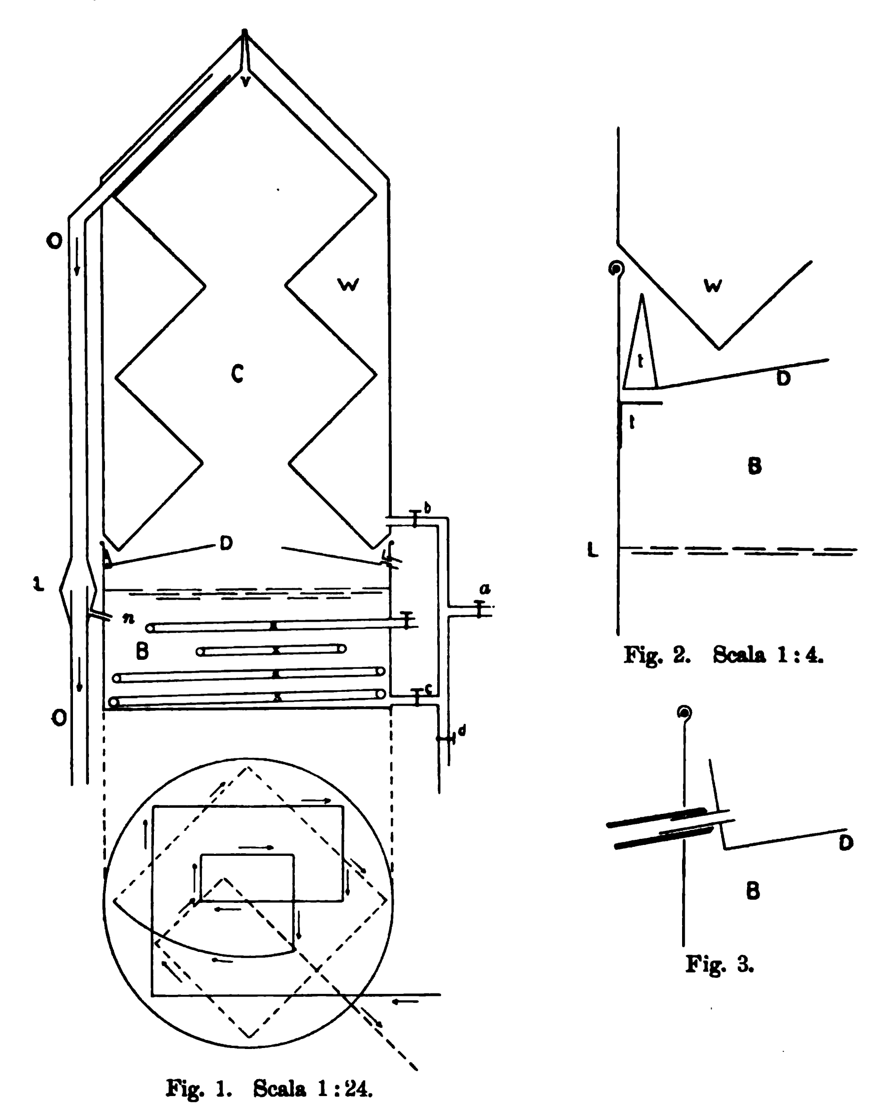


Fig. 1. Scala 1:24.

Fig. 2. Scala 1:4.

Fig. 3.

larger pipe of block tin fits over the outer end of this pipe, passing through the same circular hole in the wall of the boiler and leading to the storage tank. This is shown in detail in fig. 3. Arranged in this manner, the outer pipe can be withdrawn and the diaphragm can then be lifted out in order to inspect or alter the pipes in the boiler. The diaphragm is supported in position by three or more rivetted and

soldered brackets which project from the walls of the boiler. The diaphragm itself bears corresponding brackets which engage in the others as shown in fig. 2.

Condenser. The condenser is so made that water can circulate between the outer walls, and steam from the boiler can rise into the condensing chamber. The outer wall is cylindrical below and conical above. It is pierced by three pipes — a cold water feed-pipe, b, near the bottom; an overflow pipe, o, near the top and an air vent, v, from the inner chamber. The inner chamber is constructed in a series of truncated cones placed as shown in the figure.

The pipes. The still is supplied with water as follows: The pipe a, is a 1 inch iron pipe, connected with the water system. By means of this pipe and the valves, b, c, d, the boiler, B, and the condenser, W, can be filled or emptied at the same time or separately. The pipe, O, must have a joint above L and the pipe, b, must also be jointed so that they can be detached in order to remove the condenser from the boiler. The pipes are shown in the figure at the two sides of the still; in construction they are brought conveniently together. The still should be emptied when not in use.

Operation. To set the still in operation, first fill the boiler by closing the valves b, d, and opening the valves a, c. When the boiler is full, water will begin to escape through the constant level feed pipe n. The steam can now be turned on; c, should then be shut and b, opened to fill w, the water jacket of the condenser. When W is full, the water will overflow by the pipe o and the constant level, L. As fast as the water in B, boils away it is supplied by the feed pipe n, from the constant level, L.

The vapor rising from the boiler into C, condenses on the cold walls of the chamber and the water of condensation flows down over the surfaces and angles of the chamber and drips from the lowest angle into the catch-basin of the diaphragm, from which it flows out by the pipe already described. The still will be giving the largest flow of the distilled water with the greatest economy of cold water when the valve supplying steam is wide open and the valve b, is opened only wide enough to condense all the steam so that none escapes from the vent, v. The water escaping by the overflow pipe, o, will then be nearly boiling hot.

The storage tank. A storage tank for the distilled water must be provided. It can be made of sheet copper tinned inside with the seams soldered with tin. It is best made cylindrical, say 3 feet in diameter and 18 inches high. A lid must be provided for it. Beside the inflow pipe, an overflow pipe of block tin must be provided and connected with the overflow pipe, d or o. Beside these, a tinned faucet will be needed by which to draw off the distilled water. Tin pails will be found convenient for carrying the distilled water.

The still may be placed in the garret of the laboratory and the necessary pipes passed down into the laboratory below and there provided with valves. In this case the hot water from the overflow pipe may be used for laboratory purposes. The still described above can be made by a skilful tinsmith with careful oversight of the details of construction.

Ein weiterer Beitrag zur Aromabildung, speziell zur Bildung des Erdbeergeruches in der Gruppe „Pseudomonas". Pseudomonas Fragariae II.

[Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen Kiel (Vorstand: Prof. Dr. Weigmann)].

Von Dr. **Th. Gruber.**

Im Centralbl. für Bakt. Abt. II. 1903 sind zwei Bakterien näher beschrieben worden, die in festen Nährböden einen charakteristischen, mehr oder minder starken Geruch nach Erdbeeren erzeugen, nämlich Pseudomonas Fragariae I und Pseudomonas (Bacterium) Fragi; als drittes zu dieser Gruppe gehörend wurde Pseudomonas Fragariae II isoliert. Es stammen letztgenanntes und Pseudomonas Fragi aus Milch, Pseudomonas Fragariae I hingegen aus Futterrüben. Pseudomonas Fragariae II unterscheidet sich von Pseudomonas Fragariae I auf den ersten Blick in sämtlichen Nährböden dadurch, daß ihm keine Fluoreszenz zukommt; außerdem noch in den Tupfkolonieen auf Agar und auf Gelatine; ferner peptonisiert es Gelatine in Strichkultur innerhalb 24 Stunden, Verflüssigung dieser Kultur bei Pseudomonas Fragariae I tritt nicht ein.

Die physiologische Wirkung in Milch von Pseudomonas Fragariae II besteht in der sämigen Gerinnung derselben mit sauerer Reaktion, die beiden anderen Erdbeergeruch erzeugenden Bakterien hingegen alkalisieren die Milch. Die gänseblümchenartigen Gelatinekolonieen von Pseudomonas Fragi fehlen bei Pseudomonas Fragariae II, dessen Kolonieen sich in Gelatine rund, glattrandig und homogen gekörnt erweisen.

Aus den kulturellen und physiologischen Merkmalen ist zu erkennen, daß genannte drei Bakterien unter sich verschieden sind, während sie morphologisch infolge ihrer polaren Begeißelung zusammengehören.

Pseudomonas Fragariae II.

Characteristica: 1) Der in den festen Nährböden auftretende mehr oder minder starke Geruch nach Erdbeeren.

2) Peptonisierung der Nährgelatine mit charakteristischem Wachstum in Gelatinetupfkolonieen.

3) Die monopolare Begeißelung.

4) Die Milchkultur: Gerinnung mit sauerer Reaktion.

Fundort: Diese Bakterie wurde aus pasteurisierter Milch gezüchtet, die nach längerem Stehen geronnen war und ein eigenartiges Aroma besaß.

Gelatineplatten. Nach 5 Tagen bei 16—17° sind bis 3 mm große, runde, etwas gewölbte, schmutzig-weiße, glänzende, in durchfallendem Lichte etwas bläulich schimmernde, etwas trockenbreiige Oberflächekolonieen gewachsen. Die Tiefkolonieen sind bedeutend kleiner, völlig rund, glattrandig und erscheinen gelblichweiß. Bei 80-facher Vergrößerung sind die Tiefkolonieen völlig rund, glattrandig und homogen gekörnt; die Oberflächekolonieen schwach gekerbt, durchscheinend, mit feinen Linien durchzogen, bald radiär, bald tangential. Am 8. Tage haben die Oberflächekolonieen einen Durchmesser von 0,5 cm erreicht, ähnlich den Kolonieen auf Agar, jedoch besitzen sie die silberglänzende Zone nicht; Konsistenz der Kolonieen etwas trockenbreiiger als auf Agar.

Gelatinetupfkolonieen, 15 Proz. Die Intensität des Wachs-

tums ist bei einer Temperatur von 18—22° am stärksten, und zwar auf Milchzuckergelatine. Nach 10 Tagen sind an den betupften Stellen bis 1 cm im Durchmesser fassende, runde, schalenförmige Verflüssigungen zu beobachten, die mit unbewaffnetem Auge deutlich konzentrische Schichtung erkennen lassen, von oben betrachtet, erscheinen die Kolonieen wie flache Knöpfe. Die verflüssigte Gelatine ist dünnflüssig bis schwach dickflüssig. Mikroskopisch sind diese Kolonieen feinkörnig in der Gelatine abgegrenzt. Ein deutlicher Erdbeergeruch wird noch nach 10 Tagen wahrgenommen, erst später kommt der ammoniakalische mehr zur Geltung.

Gelatinestrich, 15 Proz. Eine rinnenförmige Verflüssigung längs des Impfstriches beginnt schon innerhalb 24 Stunden. In der verflüssigten Gelatine zeigen die einzelnen Bakterien deutliche Bewegung.

Gelatinestich, 15 Proz. Im Kanal findet selbst nach 4 Wochen kein Wachstum statt. Um die Stichöffnung bildet sich in den ersten Tagen eine große, runde, grauweiße, glänzende, breiige Kolonie; eine Verflüssigung des Nährbodens konnte hier nicht konstatiert werden, hingegen der spezifische Erdbeergeruch war lange vorhanden.

Agartupfkolonieen. Bei Zusatz von Milchzucker und bei einer Temperatur von 18—22° ist das Wachstumoptimum erreicht. Nach 10 Tagen sind an den betupften Stellen bis $1^1/_2$ cm große, runde, erhabene, manchmal etwas gebuchtete, konzentrisch geschichtete und radiär gestreifte, grauweiße, glänzende — im durchfallenden Lichte am Rande durchscheinende und bläulich schimmernde — trockenbreiige Kolonieen entstanden. Bei 80-facher Vergrößerung: Scharf abgegrenzte, ausgelappte, am Rande völlig durchsichtige, gelbliche Scheiben. Die makroskopisch erkennbaren radiären Streifen setzen sich aus feinen parallel gerichteten, nebeneinanderliegenden Einzelfäden zusammen.

Agarplattenkolonieen, 18—22° C. Betrachtet wurden diese Kolonieen zu derselben Zeit wie diejenigen auf den Gelatineplatten, im Vergleich zu diesen ist das Wachstum auf Agar bedeutend üppiger; nach 5 Tagen haben die Kolonieen schon einen Durchmesser von 5—6 mm erreicht, der nach 8 Tagen bis 8 mm heranwächst, die Kolonieen sind alsdann rund, flach, grauweiß, konzentrische Schichtungen zeigend, trockenbreiig. Beim Neigen der Schale erscheint eine schmale, konzentrische Zone, meistens am Rande silberweiß. Der Geruch nach Erdbeeren ist noch vorhanden.

Agarstrich. Bei Zimmertemperatur, 18—22°, ist auch hier ein schnelles Wachstum zu verzeichnen, während bei 32—34° das Wachstum sistiert. Nach 48 Stunden ist ein breiter, erhabener, grauweißer, glänzender, trockenbreiiger Belagstreifen herangewachsen. Im Kondenswasser einer 24 Stunden alten Kultur sind nach Zettnow an den einzelnen Individuen die Geißeln leicht nachweisbar, die Einzelstäbchen besitzen eine polare, selten zwei Geißeln, die Diplostäbchen an jedem Pole eine Cilie.

Milchkultur, 18—22°. Nach 7 Tagen tritt sämige Gerinnung der Milch ein, mit sauerer Reaktion und aromatischem Geruch, später setzt sich das Kaseïn ab, die Reaktion wird stark sauer.

Bouillonkultur. 24 Stunden bei 18—22° trüben dieselbe stark und lassen an der Flüssigkeitsoberfläche Häutchen, die Wolkenbildungen gleichen, heranwachsen. Dieselben fallen bei der leisesten Berührung zu Boden. Deutlicher Erdbeergeruch vorhanden.

Kartoffelkultur. Am 3. Tage, bei 18-22°: Breite, dicke, schleimig aussehende, schmutzig-bräunliche, wässerig breiige Belagstreifen. Ein intensiver, deutlicher Geruch nach Punschtorte entströmt der Petri-Schale. Später nehmen die Belagstreifen eine Fleischfarbe an.

Ammoniakstickstoff als Pflanzennährstoff.

Von Prof. Dr. **Gerlach** und Dr. **Vogel.**

Mit 2 Figuren.

Es ist eine noch nicht ausreichend beantwortete Frage, ob unsere Kulturpflanzen imstande sind, den Ammoniakstickstoff aufzunehmen und direkt. d. h. ohne vorherige Umwandlung in Salpeterstickstoff, zur Produktion von Eiweiß zu verwenden. Verschiedene neuere Arbeiten. wie diejenigen von Müntz, Mazé, Mayer und Krüger weisen darauf hin, daß eine Ueberführung von Ammoniakstickstoff in Salpeterstickstoff nicht erforderlich sei. Für die Praxis ist eine Entscheidung hierüber von untergeordneter Bedeutung, denn die Versuche von Wagner und anderen zeigen, mit welcher Schnelligkeit die Nitrifikation im Boden verläuft, so daß die jungen Pflanzen den Stickstoff, welcher kurz vor der Einsaat in Form von Ammoniak gegeben ist, meist schon so bald sie ihn nötig haben, als Salpeterstickstoff vorfinden. Dementsprechend beschäftigt den praktischen Landwirt auch vielmehr die Frage nach dem Wirkungsverhältnis jener beiden Stickstoffsalze, und um hierüber Klarheit zu gewinnen, werden zur Zeit auf Veranlassung der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft umfangreiche Versuche in allen Teilen Deutschlands ausgeführt.

Wissenschaftlich ist jedoch eine Beantwortung der eingangs aufgeworfenen Frage von großem Interesse. Es ist bereits darauf hingewiesen worden, daß Ammoniak im normalen Boden sehr schnell nitrifiziert wird. Demgemäß genügt es für derartige Versuche nicht, Bodenparzellen oder Vegetationsgefäße zum Teil mit Ammoniaksalzen, zum Teil mit Salpeter zu düngen, zum Vergleich eine weitere Anzahl ohne eine Stickstoffdüngung zu belassen und nun die Entwickelung der Pflanzen auf diesen verschieden behandelten Parzellen oder Gefäßen zu beobachten, sondern es muß gleichzeitig der Nachweis erbracht werden, daß die zugeführten Ammoniaksalze auch von Beginn des Pflanzenwachstums bis zur Ernte nicht nitrifiziert worden sind. Demgemäß sind die Versuche von Müntz, Pagnoul und anderen, welche mit nichtsterilisiertem Boden arbeiteten und so gegen eine Ueberführung von Ammoniakstickstoff in Salpeterstickstoff keinen Schutz boten, zur Entscheidung der erwähnten Frage wenig beweiskräftig. Versuche mit sterilisiertem Boden haben dagegen Mazé und Krüger ausgeführt, und beide Forscher zeigen, daß sich auch unter dem Einfluß einer Ammoniakdüngung in einem stickstoffarmen Boden kräftige Pflanzen erzielen lassen.

Wir haben gleichfalls derartige Versuche angestellt und hierzu Gefäße benutzt, welche es erlaubten, ihren Inhalt von Anfang bis zu Ende der Vegetationsperiode frei von nitrifizierenden Bakterien zu halten. Ein solches Vegetationsgefäß ist in Fig. 1 abgebildet. Es besteht aus einem Zinkzylinder von 30 cm Höhe und 18 cm Durchmesser, welcher unten geschlossen ist und sich oben konisch verengt, so daß die obere Oeffnung nur noch einen Durchmesser von 8 cm besitzt. Am unteren Außenrande befinden sich 3 Luftzuführungsrohre *r*, welche mit Watte ausgefüllt sind und reine bakterienfreie Luft in das Innere gelangen lassen. Am oberen Teile des Gefäßes bei *w* ist ein Rohr angesetzt, welches ins Innere führt, hier horizontal umbiegt und auf der Unterseite durchlöchert ist. Diese Einrichtung dient dazu, die Gefäße während der

Vegetationszeit mit keimfreiem Wasser zu begießen. Für gewöhnlich ist die äußere Oeffnung des Rohres mit einem Wattepfropfen verschlossen. In diese Gefäße wurden im Frühjahr zunächst 3 kg kleine gewaschene Steine und dann 5,5 kg trockene Erde gefüllt, welcher 15 g Calciumkarbonat und 6 g Dikaliumphosphat zugemischt waren. Diese Füllung reichte bis zum Hals der Gefäße (bis *b*). Hierauf schlossen wir die Luftzuführungsröhren, die Wasserröhren und die obere Oeffnung der Gefäße durch Wattepfropfen und sterilisierten die Gefäße an 2 Tagen je 4 Stunden im Schimmelschen Desinfektionsapparat durch Dampf von $^1/_{10}$ Atm. Ueberdruck. Kurze Zeit darauf erhielten diejenigen Vegetationsgefäße, welche mit Stickstoffsalzen, — Ammoniumsulfat oder Natronsalpeter, — gedüngt werden sollten, diese Verbindungen in Form sterilisierter Lösungen zugesetzt, und zwar durch das seitliche Wasserzuführungsrohr *w*. Am gleichen Tage erfolgte die Aussaat der Maiskörner[1]), welche vorher durch 3 Minuten lange Behandlung mit Sublimat (2:1000) und Abspülen mit sterilisiertem Wasser von anhaftenden Keimen befreit waren. Sie wurden durch Lüften des oberen Wattebausches in die Gefäße gebracht. An Stelle des letzteren bedeckten wir hierauf die obere Oeffnung mit einer Scheibe sterilisierter Watte, welche durch eine aufgestülpte, ebenfalls sterilisierte Glasschale (*g*) festgehalten wurde. Der Mais wurde als Versuchspflanze gewählt, weil er sich kräftig entwickelt, große Massen organischer Substanz produziert, als eine Pflanze gilt, welche besonders für eine Salpeterdüngung empfänglich sein soll und große, glatte, verhältnismäßig leicht keimfrei zu machende Körner besitzt. Eine Reihe von Vorversuchen zeigte, daß durch die Behandlung mit obiger Sublimatlösung die Keimfähigkeit der Samen nicht litt, dagegen die den Maiskörnern anhaftenden Bakterien vernichtet wurden[2]). Vier Kulturgefäße blieben unbepflanzt, und zwar erhielten zwei derselben keine Stickstoffdüngung, während die beiden anderen mit Ammoniumsulfat gedüngt waren. Es ergeben sich demnach folgende Reihen:



Fig. 1.

1) ohne eine Stickstoffdüngung
2) $^1/_2$ g Salpeterstickstoff
3) $^1/_2$ g Ammoniakstickstoff
} mit Mais bepflanzt,

4) ohne eine Stickstoffdüngung
5) $^1/_2$ g Ammoniakstickstoff
} unbepflanzt.

1) Je 2 Körner pro Gefäß.

2) In einzelnen Fällen blieben Sporen eines Schimmelpilzes, welche auf den Samen enthalten waren, lebensfähig.

Die Keimung verlief in allen Kulturgefäßen gut und gleichmäßig. Man erkannte die jungen Pflanzen, sobald sie bis zur Watte emporgewachsen waren, an den feuchten Stellen, welche sie in den Wattescheiben hervorriefen. Es wurde dann der eine Keim mit einer sterilen Scheere abgeschnitten, während dem anderen ermöglicht wurde, die Watte leicht zu durchdringen, indem wir sie an der Stelle, wo der Keim vorhanden war, etwas auseinanderzogen, so daß ein kleines Loch entstand. Gleichzeitig wurde die gläserne Deckschale entfernt und die Wattescheibe an den Hals des Gefäßes festgebunden.

Während ihres Wachstums wurden die Pflanzen durch die seitlichen Wasserröhren mit destilliertem, sterilisiertem Wasser begossen. Sie entwickelten sich anfangs am besten in denjenigen Gefäßen, welche keine Stickstoffdüngung erhalten hatten. Sowohl die Zuführung von Salpeter, als auch besonders diejenige von Ammoniumsulfat in Mengen von 3,13 resp. 2,37 g pro Gefäß störte das Wachstum im Anfang etwas. In nicht sterilisierten Kulturgefäßen ist uns ein solcher ungünstiger Einfluß bei Anwendung der genannten Düngungen bisher niemals entgegengetreten. Es scheint demnach, daß im sterilisierten Boden gewisse Düngesalze vorsichtiger, am besten in kleineren Portionen zu verschiedenen Zeiten angewandt werden. In einigen Kulturgefäßen gingen die Pflanzen sogar ein. Später erholten sich jedoch die stehen gebliebenen Maispflanzen in den mit Ammoniumsulfat und Salpeter gedüngten Gefäßen zusehends, und es machte sich die Wirkung des Stickstoffes bemerkbar. Am besten standen jetzt die mit Salpeter versehenen Kulturgefäße, es folgten dann diejenigen, welche eine Ammoniumsulfatdüngung erhalten hatten und hierauf diejenigen, denen kein Stickstoff zugeführt worden war. Die Photographie No. 2 läßt dies erkennen.

Am 7. und 19. Juni, 15. Juli, 10. August und 14. September wurden aus den Vegetationsgefäßen, welche nicht mit Mais bepflanzt worden waren, Erdproben entnommen und qualitativ auf das Vorhandensein von Ammoniak und Salpeter geprüft. In allen Fällen ergaben die mit Ammoniumsulfat gedüngten Gefäße eine starke Ammoniakreaktion, dagegen war niemals in ihnen salpetrige Säure oder Salpetersäure nachweisbar. Eine Umwandlung von Ammoniakstickstoff in Salpeterstickstoff hat demnach hier nicht stattgefunden. In den Gefäßen, welche keine Stickstoffdüngung erhalten hatten, ließ sich bis zum 10. August gleichfalls weder Ammoniak, noch salpetrige oder Salpetersäure entdecken. Erst im September konnten Spuren dieser Verbindungen nachgewiesen werden. Die Ernte der mit Mais bepflanzten Gefäße fand am 12. September statt, zu einer Zeit, in welcher die Pflanzen in Blüte standen.

Geerntet wurden:

Reihe	Stickstoffdüngung pro Gefäß	durchschnittliche Ernte pro Gefäß	Gehalt an		geerntete Trockensubstanz pro Gefäß		geernteter Stickstoff pro Gefäß	
			Wasser	Stickstoff		mehr gegen Reihe 1		mehr gegen Reihe 1
		g	Proz.	Proz.	g		g	
1	ohne Stickstoffdüngung	199	72,15	0,095	55,42	.	0,189	.
2	½ g Salpeterstickstoff	387	79,10	0,115	80,88	25,46	0,445	0,256
3	½ g Ammoniakstickstoff	372	80,50	0,104	72,54	17,12	0,387	0,198

Obige Zahlen zeigen, daß sowohl die Salpeterdüngung, als auch die Zugabe von Ammoniumsulfat den Ertrag wesentlich gesteigert hat. Aus



Fig. 2.

ohne Stickstoff	$^1/_2$ g N im Natriumnitrat	$^1/_2$ g N im Ammoniumsulfat
199,0 g	387,0 g	372,0 g

den mit Stickstoff gedüngten Gefäßen sind ferner bedeutend größere Stickstoffmengen entnommen worden als aus denen der Reihe 1. In beiden Fällen zeigt sich jedoch der Salpeterstickstoff überlegen.

mehr geerntete Trockensubstanz		mehr geernteter Stickstoff	
durch Salpeter	durch Ammoniumsulfat	durch Salpeter	durch Ammoniumsulfat
100	67	100	77

Wir wollen hierauf an dieser Stelle nicht weiter eingehen und nur die Tatsache konstatieren, daß auch in dem gut sterilisierten Boden der Ammoniakstickstoff eine deutlich hervortretende Wirkung ausgeübt hat.

Es wurden hierauf die Erden aus den mit Mais bepflanzten Kulturgefäßen sofort nach der Ernte auf das Vorhandensein von löslichen Stickstoffverbindungen untersucht. Die quantitative Bestimmung ergab

in der Erde aus den ungedüngten Gefäßen	0,002	Proz. wl.-Stickstoff
mit Ammoniumsulfat gedüngten Gefäßen	0,002	„ „
mit Salpeter gedüngten Gefäßen [1]	0,001	„ „

1) 200 g Erde wurden mit 600 ccm Wasser, welches durch Salzsäure schwach angesäuert war, geschüttelt. In je 300 ccm Lösung wurde der Stickstoff bestimmt.

Ammoniak, salpetrige Säure und Salpetersäure ließen sich in keiner dieser Erden mehr nachweisen.

Schließlich wurde Erde aus einem Kulturgefäß, welches mit Ammoniumsulfat gedüngt und mit Mais bepflanzt war, nach der Ernte in Omelianskische Ammoniak- und Nitritlösungen gebracht, um sie auf die Anwesenheit nitrifizierender Organismen zu prüfen. Aber selbst nach 25-tägigem Aufbewahren im Brutschrank war keine Umwandlung von Ammoniak in Nitrit resp. von Nitrit in Nitrat erfolgt. Gleichzeitig zur Kontrolle verwandte frische Erde derselben Parzelle hatte bereits nach 10 Tagen sämtliches Ammoniak resp. Nitrit der Omelianskischen Lösungen oxydiert und zum Verschwinden gebracht. Unsere Untersuchungen zeigen demgemäß, daß sich in den sterilisierten und mit Ammoniumsulfat gedüngten Gefäßen während und am Ende der Vegetationsperiode keine salpetrigsauren und salpetersauren Verbindungen, sowie keine Nitrit- und Nitratbildner nachweisen ließen. Trotzdem hat das Ammoniaksalz gewirkt und die Ernte an oberirdischer Trockensubstanz und an Stickstoff um 17,12 g resp. 0,198 g pro Gefäß erhöht. Noch deutlicher tritt diese Wirkung hervor, wenn man gleichzeitig das Gewicht der geernteten Wurzeln und ihren Stickstoffgehalt berücksichtigt. Um dies zu ermitteln, wurde die Wurzelmasse aus Gefäßen, welche keinen Stickstoff erhalten hatten oder hiermit gedüngt waren, sorgfältig gesammelt. Man wird hierbei allerdings mit kleinen Verlusten und Ungenauigkeiten zu rechnen haben, aber immerhin sind die gewonnenen Zahlen recht lehrreich. Es wurden gewonnen aus einem Gefäß ohne Stickstoffdüngung

33 g Wurzeln mit 0,235 Proz. Stickstoff = 0,078 g Stickstoff,

aus einem mit Ammoniumsulfat gedüngten Gefäße

49 g Wurzeln mit 0,609 Proz. Stickstoff = 0,298 g Stickstoff.

Rechnet man diese Stickstoffmenge zu derjenigen der oberirdischen Substanz hinzu, so sind aus dem Boden aufgenommen worden

ohne Stickstoffdüngung	0,267 g Stickstoff
mit Ammoniumsulfat gedüngt	0,685 „ „
mehr durch die Ammoniakdüngung:	0,418 g Stickstoff

Diese 0,418 g Stickstoff konnte der ungedüngte Boden nicht hergeben, denn er enthielt am Ende der Vegetation nur noch 0,002 Proz. leichtlöslichen Stickstoff, das sind pro Gefäß höchstens 0,110 g. Sie entstammen vielmehr dem Ammoniumsulfat, welches, wie die angeführten Untersuchungen zeigen, nicht nitrifiziert worden ist und infolgedessen als solches von der Maispflanze aufgenommen und zur Produktion von Eiweiß verwandt sein muß.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 5.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Aus der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.

Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe[1]).

Von **H. Will.**

VI. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden.

III. Wachstumsform der Riesenkolonieen bei Aussaat von Kahmhautzellen 2. Generation.

Die Wachstumsform der Kahmhautzellen 2. Generation in Einzellkolonieen ist, wie früher dargelegt wurde, eine zweifache. In dem einen Fall entstehen an den Enden der Mutterzelle gedrungen-ovale bis rundliche Seitenglieder, welche anfangs unregelmäßige Zellhaufen bilden, später aber auch den Wachstumstypus I annehmen. Im zweiten Fall entsteht, indem die Mutterzellen nur mit gestreckt-ovalen und wurstförmigen Zellen weiterwachsen, ein ausgebreitetes, lockeres Netzwerk.

Auf Würzegelatine ist die erste Wachstumsform vorherrschend, auf Biergelatine die zweite.

Diese Verhältnisse sind für die Wachstumsform der Riesenkolonieen von Bedeutung.

A. Wachstumsform der Riesenkolonieen auf 10-proz. Würzegelatine.

Schon in den ersten Entwickelungsstadien treten Erscheinungen auf, welche gleichmäßig einen deutlichen Unterschied zwischen den Riesenkolonieen aus Bodensatzhefe und aus Kahmhautzellen 2. Generation erkennen lassen.

Erstens geht die Entwickelung der Riesenkolonieen im Vergleich zu den aus Bodensatzhefe unter den gleichen Temperaturverhältnissen gezüchteten sehr langsam vor sich.

Offenbar dauerte es längere Zeit, bis sich die rundlichen Zellen, welche die wurstförmigen überwuchern, stärker vermehrt hatten, und dann den Ausgangspunkt der Ströme bildeten. Waren letztere erst einmal angedeutet, dann ging das weitere Wachstum der Riesenkolonieen in normaler Weise weiter und unterschieden sich in dieser Hinsicht die

---

1) Nach Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauereien in München. Zeitschr. ges. Brauwesen. Bd. XXVII. 1904. No. 49 und 50. p. 861—866, 882—884. Vergl. d. Centralbl. Bd. I. 1895. p. 449; Bd. II. 1896. p. 752; Bd. V. 1899. p. 726; Bd. IX. 1902. p. 135; Bd. XII. 1904. p. 294; Bd. XIII. 1904. p. 449.

gleichalterigen Riesenkolonieen aus Kahmhautzellen 2. Generation von denjenigen aus Bodensatzhefe nicht voneinander. Das Aussehen derselben wird auch gegenüber den ersten Entwickelungsstadien „hefiger".

Die langsam wachsenden wurstförmigen Zellen wurden von den rascher und stärker sich vermehrenden rundlichen und ovalen Zellen, aus welchen die Ströme mit ihren verschiedenen Zellformen hervorgehen, in den ersten Entwickelungsstadien der Riesenkolonieen nicht vollständig unterdrückt, sondern vermehren sich ebenfalls und wird eben hierdurch eine zweite, sehr wesentliche und häufig sehr scharf und deutlich ausgesprochene Verschiedenheit zwischen jungen Riesenkolonien aus Kahmhautzellen 2. Generation und aus Bodensatzhefe ebenfalls schon in den ersten Entwickelungsstadien verursacht.

In der zweiten Versuchsreihe trat dieselbe besonders scharf hervor.

Schon am neunten Tage war hier die zentrale, eingesenkte Partie der Riesenkolonie auf der Oberfläche gekräuselt.

Jedenfalls ist es in hohem Grade interessant und für die Beurteilung der früher an den Riesenkolonieen aus Bodensatzhefe beobachteten Oberflächengestaltung wichtig, daß bei direkter Aussaat von den langgestreckt-wurstförmigen Zellen auf Würzegelatine schon in einem sehr frühen Entwickelungsstadium genau die gleichen Erscheinungen auftreten, welche bei Aussaat von Bodensatzhefe Stamm 2 erst in einem späteren Entwickelungsstadium, erst in der zweiten Entwickelungsphase auftreten und durch gleichgeformte Zellelemente, welche bisher nach Maßgabe der Beobachtungen an den Kahmhäuten auf Flüssigkeiten als Kahmhautzellen 2. Generation angesprochen wurden, genau in der gleichen Weise hervorgerufen werden.

Aehnliche Bilder würde man wohl bei den Riesenkolonieen aus gewöhnlicher Bodensatzhefe mit 10-proz. Würzegelatine in der zweiten Entwickelungsphase erhalten, wenn die Gelatine nicht so frühzeitig verflüssigt würde.

Auch nach einer dritten Richtung unterscheiden sich bis zu einem gewissen Grade schon vielfach die jüngeren Riesenkolonieen aus Kahmhautzellen 2. Generation von denjenigen aus der Bodensatzhefe. Bei letzteren sind nach allen bisher vorliegenden Beobachtungen die Ströme immer einfach, kompakt, niemals geteilt; sie schließen eng aneinander an.

Die Randpartie der Riesenkolonieen aus Kahmhautzellen 2. Generation besteht dagegen häufig schon nach 14 Tagen aus sehr tief eingeschnittenen und vielfach gelappten Strömen, ähnlich wie bei den Riesenkolonieen aus Bodensatzhefe von Stamm 6 und 7, sowie bei den Riesenkolonieen aus Kahmhautzellen 1. Generation von Stamm 7. Trotzdem erscheint der Rand der Riesenkolonie zwar nicht glatt, sondern nur verhältnismäßig schwach gebuchtet.

Dieser Unterschied in der Ausbildung der Ströme war jedoch nicht einmal an den einzelnen Kolonieen, noch viel weniger innerhalb der gleichen Versuchsreihe in gleichem Maße wahrnehmbar und glich sich später teils wieder aus, teils trat er noch schärfer hervor oder kam überhaupt erst an dem freien Ende der stark ausgebreiteten Ströme zur Ausbildung.

Bei sämtlichen älteren Riesenkolonieen war auch die Zuwachszone viel schärfer markiert als bei den Kolonieen aus Bodensatzhefe.

In Beziehung auf die Färbung und Konsistenz der Riesenkolonieen herrschte im späteren Alter völlige Uebereinstimmung mit denjenigen aus Bodensatzhefe.

Es bestehen also bei Stamm 2 tatsächlich gewisse Unterschiede in der Wachstumsform der Riesenkolonieen aus Kahmhautzellen 2. Generation und aus der gewöhnlichen Bodensatzhefe. Diese Unterschiede sind jedoch immer nur graduelle.

Im allgemeinen kann man wohl sagen, daß die Wachstumsform der Riesenkolonieen aus den Kahmhautzellen 2. Generation von Stamm 2 in den Hauptzügen mit denjenigen von Bodensatzhefe übereinstimmt. Abweichungen von der Regel in der Ausbildung der Ströme scheinen auch hier in der Natur des Aussaatmaterials begründet zu sein, obwohl dasselbe nicht direkt in die Ströme eintritt, nicht direkt durch sein Wachstum die Ströme erzeugt. Nach allen vorliegenden Erfahrungen treten bei Aussaat der Kahmhautgenerationen immer größere Variationen in der Wachstumsform auf als bei Aussaat der Gärungsform.

Anatomischer Bau der ausgewachsenen Riesenkolonieen.

Im wesentlichen besteht bezüglich der die Riesenkolonie zusammensetzenden Zellformen und deren Verteilung, also bezüglich des ganzen Aufbaues, Uebereinstimmung mit den aus Bodensatzhefe hervorgegangenen Kolonieen.

In Beziehung auf die zentrale Partie macht sich gegenüber den aus Bodensatzhefe hervorgegangenen Kolonieen insofern ein Unterschied geltend, als der eingesäten Bodensatzhefe und deren Nachkommen entsprechende große, rundliche Zellformen meist da fehlen, wo die zentrale Partie schon sehr frühzeitig auf der Oberfläche Faltungen entwickelt. Es herrschen hier in der Regel gestreckte Zellelemente vor, die allerdings bis auf einen Längsdurchmesser von 8 μ bei 3—4 μ Querdurchmesser zurückgehen können. Kleine, ovale und rundliche Zellen sind wie bei den Riesenkolonieen aus Bodensatzhefe ebenfalls vorhanden, sie treten jedoch den gestreckten Zellformen gegenüber zurück. In einzelnen Präparaten sind sie in nicht größerer Zahl vorhanden als in der Randpartie der Kolonie.

Die mycodermähnlichen Faltungen und Kräuselungen der Oberfläche der zentralen Partie, ebenso wie diejenige der Ströme sind wesentlich aus Sproßverbänden derber, wurstförmiger Zellen zusammengesetzt, die reich an Oelkörperchen sind.

Da, wo diese Faltungen fehlen, fanden sich die gleichen gedrungenen Zellformen wie auf der Oberfläche der Ströme.

Da häufig die zentrale Partie der Riesenkolonieen sowohl auf der Oberfläche wie im Innern des Hefebelages nahezu ausschließlich aus Sproßverbänden derber, wurstförmiger Zellen wie die Einsaat besteht, so liegt hierin wohl wiederum der unwiderlegliche Beweis, daß diese und die Sproßverbände langgestreckt-wurstförmiger Zellen in den Strömen, sowie in den rhizoidenartigen Anhängen verschiedener Natur sind. Würde das nicht der Fall sein, würden die Kahmhautzellen 2. Generation auch das Mark der Ströme und die rhizoidenartigen Anhänge bilden, einfach in dieselben übertreten, so dürfte man wohl von den Strömen an der Randpartie die gleiche Wachstumsform wie in der zentralen Partie erwarten; das ist tatsächlich nicht der Fall.

Die verschiedenartige Zusammensetzung der zentralen Partie beweist aber auch, daß ganz ähnlich wie in den Einzellkolonieen die Einsaat bald vorherrschend mit wurstförmigen Zellen und nicht mit seitlich erzeugten rundlichen weiter wächst, bald erstere Formen bei der Vermehrung, wenigstens anfangs, zurücktreten.

B. Wachstumsform der Riesenkolonieen auf 10-proz. Biergelatine.

Ein schärferer Gegensatz als zwischen der typischen Wachstumsform der Kahmhautzellen 2. Generation auf Biergelatine und derjenigen auf Würzegelatine bei gleichem Aussaatmaterial besteht nicht wieder.

Die wesentlichsten Unterschiede der Kolonieen gegenüber denjenigen aus Bodensatzhefe und Kahmhautzellen 1. Generation auf Biergelatine am 8.—9. Tage sind folgende:

1) Die Riesenkolonieen aus Kahmhautzellen 2. Generation sind viel stärker und üppiger als alle anderen auf Biergelatine gezogenen gewachsen, und zwar sowohl in der Breite als insbesondere in die Höhe;

2) die jungen Riesenkolonieen zeigen schon jetzt, allerdings mit graduellen Unterschieden, auf den verschiedenen Biergelatinen und bei den beiden Reinkulturen in völligem Gegensatz zu allen anderen auf Biergelatine angelegten Kulturen ein sehr charakteristisches Gepräge.

Die Oberfläche erscheint schon gekräuselt und gefaltet; sie hat ein ähnliches Aussehen wie eine ältere, gekröseartig gefaltete Haut von Mycoderma.

Die Farbe der Kolonieen ist in diesem Stadium ähnlich denjenigen von Mycoderma und Anomalus grau-weißlich, die Beschaffenheit noch etwas glasig.

Im weiteren Verlauf der Beobachtungen entwickelten sich die Kolonieen in ganz vorzüglicher Weise und holten einzelne derselben, welche etwas zurückgeblieben waren, die übrigen wieder ein. Die mit großer Oberfläche entwickelten Falten griffen immer weiter über den Rand der Kolonie hinaus. In einzelnen Fällen verschwanden die anfangs vorhandenen Faltungen der Oberfläche wieder, sie wurden überwuchert, um erst später wieder hervorzutreten.

Nach etwa 1 Monat kann sich das Aussehen der Riesenkolonieen dadurch ändern, daß, während die Randpartie, die über das Substrat hinkriecht, noch stark ausgebildete, gekröseartig gewundene Falten zeigt, letztere in der zentralen Partie zusammenfallen und fast ganz verschwinden. Vielfach störte dann auch die beginnende Verflüssigung der Gelatine weitere Beobachtungen.

Strombildungen wie auf Würzegelatine, oder wie sie selbst bei manchen Kolonieen von Kahmhautzellen 1. Generation mit sehr viel wurstförmigen Zellen in der Aussaat auf der Biergelatine noch zur Ausbildung gelangten, waren nicht einmal andeutungsweise vorhanden.

Es tritt also bei Aussaat von Kahmhautzellen 2. Generation auf Biergelatine ein Wachstum in reinster Form und üppigster Entwickelung auf, wie es auch bei allen anderen Riesenkolonieen, und zwar bei denjenigen auf Würzegelatine, immer in der zweiten Phase der Entwickelung auf der zentralen Partie beobachtet wird. Ebenso zeigen die Riesenkolonieen auf Biergelatine bei Aussaat von Bodensatzhefe und Kahmhautzellen 1. Generation eine ähnliche Wachstumsform, wenn auch meist nur in beschränktem Umfange, und ohne daß (aus Gründen, welche eingehender erörtert wurden) damit stets sichtlich, analog den Kolonieen auf Würzegelatine, eine zweite Entwickelungsphase eingeleitet worden wäre.

Unter allen Umständen fanden sich, sobald diese Wachstumsform auf der Bildfläche erschien, die gleichen langgestreckt-wurstförmigen, derben Zellelemente wie in der zweiten Entwickelungsphase der Kahmhäute ein und dürfte damit außer allem Zweifel stehen, daß in allen Fällen auch die gleiche Entwickelungsform von Zellen gleichen morphologischen und physiologischen Wertes vorliegt.

Wir werden also wohl mit Recht die in der zweiten Entwickelungsphase der Riesenkolonieen auf Würzegelatine und die in gleicher Weise auf Biergelatine auftretenden Wachstumsformen auf die Kahmhautzellen 2. Generation zurückführen dürfen.

Anatomischer Bau der ausgewachsenen Riesenkolonieen.

Die oberflächliche, gekröseartig gefaltete Partie der Riesenkolonieen besteht in völliger Uebereinstimmung mit früheren Beobachtungen in allen ihren Teilen vorherrschend aus Sproßverbänden langgestreckter, wurstförmiger Zellen, welche eine Länge bis zu 50 μ bei einem Querdurchmesser von etwa 3 μ erreichen. Untermischt sind diese Elemente in geringer Anzahl mit gestreckt-ovalen und fast rundlichen Zellen von durchschnittlich 8 μ Länge bei 7 μ Breite.

Alle diese Zellen des Oberflächenbelages sind wie gewöhnlich sehr reich an Oelkörperchen, welche sich mit konzentrierter Schwefelsäure schwach graugrün färben. Der frei fortwachsende Rand der Riesenkolonie besteht ebenfalls da, wo noch keine Faltungen der Oberfläche wahrnehmbar sind, vorherrschend aus Sproßverbänden langer, wurstförmiger Zellen, die sich jedoch durch den Mangel an Oelkörperchen auszeichnen, im übrigen jedoch in Beziehung auf Form und Größe übereinstimmen.

Auch im Innern stimmt der die Riesenkolonie bildende Hefebelag mit der Zusammensetzung der Faltungen an der Oberfläche überein, was kaum wundernehmen wird, da die Riesenkolonieen sehr häufig schon sehr frühzeitig die gekröseartigen Faltungen auf der Oberfläche zeigten. Die Uebereinstimmung findet sich auch in solchen Kolonieen, welche zu Anfang der Entwickelung kaum irgend welche charakteristische äußere Formerscheinungen zeigten. Neben den Sproßverbänden langgestreckter Zellen, welche in einzelnen Kolonieen etwas gedrungener in der Form erscheinen, sind dann sehr häufig gestreckt-ovale und ovale Zellen, deren Größe bis zu 7 μ herabsinkt, vorhanden.

Die Riesenkolonie stellt nur einen oberflächlichen Hefebelag dar. Rhizoidenartige Anhänge auf der Unterseite fehlen trotz der kräftigen und üppigen Entwickelung der Kolonieen, doch sind auch in Uebereinstimmung mit früheren Beobachtungen ungemein reich verzweigte Sproßverbände sehr langgestreckter, wurstförmiger Zellen in die Gelatine hineingewachsen.

Wenn die Sproßverbände wurstförmiger Zellen der Kahmhautzellen 2. Generation mit den gleichgeformten Zellen der 1. Kahmhautgeneration und denjenigen des Markes, sowie der rhizoidenartigen Anhänge der Riesenkolonieen identisch wären, so hätte man doch wohl gerade bei Aussaat der Reinkulturen von Kahmhautzellen 2. Generation auf den gleichen Biergelatinen, auf welchen Kolonieen mit dem gleichen Aufbau wie auf Würzegelatine (Stamm 7) wuchsen, erwarten dürfen, daß dieselben in Strömen, und nicht mit oberflächlichen Faltungen, die bei möglichst großer Oberflächenentwickelung und mit den für die Rindenschichte der Riesenkolonieen charakteristischen Inhaltsbestandteilen über die ganze Kolonie ausgebreitet sind, wachsen würden.

Wenn diese Zellgenerationen ihrem inneren Wesen nach identisch wären, hätte man doch wohl erwarten dürfen, daß die Kahmhautzellen 2. Generation in üppigster Weise in die Gelatine hineinwachsen und dort rhizoidenartige Anhänge bilden würden.

In dieser Verschiedenheit der Wachstumsform, wie sie sich auf Biergelatine zeigte, dürfte aber wieder die Berechtigung zur Annahme einer

Verschiedenheit der entwickelungsgeschichtlich und nach ihrer Lagerung im Hefebelag, sowie nach ihrem Bau verschiedenen Formen wurstförmiger Zellen liegen, um so mehr, da die Wachstumsform mit gefalteter Oberfläche auch auf der Würzegelatine bei Aussaat von Kahmhautzellen 2. Generation auftritt. Es dürfte dies also die für die Kahmhautzellen 2. Generation charakteristische Wachstumsform sein. Die kleinen Kräuselungen auf der Oberfläche der Randpartie, wie sie bei Stamm 6 und bei Stamm 7, bei letzterem bei den Kahmhautzellen 1. Generation, auf Würzegelatine auftreten, bestehen in der Regel (Ausnahme bei Stamm 7) aus kleinen ovalen und gestreckt-ovalen Zellen, überhaupt aus gedrungeneren Elementen. Diese Kräuselungen sind also nach ihrer Abstammung mit den gekröse- und mycodermaähnlichen Faltungen keineswegs als identische oder auch nur graduell verschiedene Bildungen anzusehen.

Neben den gewöhnlichen wurstförmigen Zellen finden sich auch keulen- und birnförmige vor, welche häufig voneinander durch eine ziemlich breite, deutlich sichtbare Querwand getrennt sind. Nicht selten finden sich auch mycelfadenartige Zellen (gemessen bis 88 μ). Damit tritt eine völlige Uebereinstimmung zwischen der auf festem Nährboden gewachsenen Vegetation und der auf Würze in sehr alten Kahmhautkulturen vorhandenen sehr scharf hervor.

Zuweilen finden sich Riesenkolonieen, welche ein doppeltes Gesicht zeigen: sie sind teils von starken Faltungen bis an den Rand bedeckt, andererseits weisen sie nur ganz schwache Andeutung von Faltung auf, oder sie sind auf der Oberfläche völlig glatt. Die Faltungen sind in der gleichen Weise wie bei den anderen Kolonieen zusammengesetzt und tragen den gleichen Charakter. Da, wo nur schwache Andeutungen von Faltung vorhanden sind, sind die oberen Schichten vorherrschend aus ovalen Zellen zusammengesetzt; es sind jedoch auch in sehr großer Zahl große Sproßverbände derber wurstförmiger Zellen vorhanden. Im Innern des Hefebelages finden sich wieder vorherrschend, an einzelnen Präparaten fast ausschließlich, große Sproßverbände langgestreckt-wurstförmiger Zellen vor.

Trägt man den Hefebelag einer solchen Kolonie von Kahmhautzellen 2. Generation in verschiedener Höhe in Schichten vorsichtig ab, so kommen auch im Innern, in völliger Uebereinstimmung mit den übrigen Riesenkolonieen, die Querschnitte der älteren, tiefer liegenden Faltungen zum Vorschein. Die Querschnitte zeigen hin- und hergebogene Linien.

Der Aufbau ist also im wesentlichen der gleiche wie bei den anderen Riesenkolonieen.

Es wiederholen sich bei den Riesenkolonieen dieselben Wachstumserscheinungen, welche bei den Einzellkolonieen beobachtet wurden. In dem einen Falle wächst die Aussaat ausschließlich oder vorherrschend in Sproßverbänden langgestreckt-wurstförmiger Zellen und kommt damit die charakteristische Wachstumsform der Riesenkolonieen in schönster und üppigster Form zur Entfaltung. Dies findet, völlig entsprechend den Beobachtungen an den Einzellkolonieen auf Biergelatine, auch bei dem Wachstum der Riesenkolonieen am häufigsten statt.

Im anderen Falle erfolgt die Vermehrung vorherrschend oder wenigstens in sehr reichlichem Maße mit rundlichen und ovalen Zellen und ist damit die typische Wachstumsform der Riesenkolonieen aus Kahmhautzellen 2. Generation mehr oder weniger vermischt; sie bleibt im Innern der Kolonie überhaupt verborgen, oder sie macht sich erst

spät geltend, wenn die langgestreckt-wurstförmigen Zellen allmählich zur Vorherrschaft gelangen.

Wenn in den Kolonieen von Bodensatzhefe etc. auf Würze- und Biergelatine eine Kräuselung der Oberfläche der zentralen Partie fehlt, so liegt hierin durchaus nichts auffälliges. Die Zellelemente, welche sie verursachen, sind wohl vorhanden, können aber nicht zur Geltung kommen.

Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Bericht über die Tätigkeit der Hefereinzucht-Station Geisenheim a. Rh. aus Wortmanns Bericht der Königlichen Lehranstalt zu Geisenheim. 1903.

Der Bericht hebt zunächst die Vorteile der Vergärung von Obst- und Traubenmosten mit Reinhefe hervor. Die 1902er Weine erforderten oft eine Umgärung mit Reinhefe, dabei wurde von der Praxis nicht selten der Fehler gemacht, die Weine vor der Zuckerung und dem Zusatz von Hefe zu warm zu halten. Solche Weine werden leicht essigstichig. Von kranken Weinen wurden besonders solche behandelt, die durch Kahm- und Essig- oder andere Bakterien im Geschmack geschädigt oder trübe geworden waren. Trübungen durch nachträgliche Eiweißausscheidungen wurden sowohl bei Stillweinen als auch bei Schaumweinen häufig beobachtet. Von den zahlreichen neugezüchteten Organismen sind zu erwähnen Hefen, welche aus 1893er noch gärenden Weinen isoliert wurden und große Gleichmäßigkeit zeigten und solche, welche aus dem Hefetrub von Formosa-Reiswein stammten. Weiterhin enthält der Bericht Untersuchungen über Saccharomyces apiculatus und die Bildung von H_2S durch die Hefe und andere Weinorganismen, über die an anderer Stelle berichtet wird. Dauerpräparate von Schimmelpilzen wurden in der Weise hergestellt, daß auf Gelatine gezüchtete Riesenkulturen auf Karton aufgeklebt wurden. Diese Präparate hielten sich unter Glas gerahmt, und auch in Pappschachteln aufbewahrt, vorzüglich und stellten ein gutes Anschauungs- und Demonstrationsmaterial dar.

Schander (Geisenheim).

Referate.

Baur, E., Myxobakterienstudien. (Archiv für Protistenkunde. Bd. V. p. 92—121. Mit 1 Taf. u. 3 Textfig.)

Um den Myxobakterien, die noch sehr häufig mit Mißtrauen behandelt werden, zur Anerkennung als selbständige Organismengruppe zu verhelfen, teilt Verf. ausführliche morphologische und biologische Untersuchungen über neu aufgefundene und über schon bekannte Myxobakterien mit. Diese sind in verschiedenen Gattungen und Arten in Europa sehr verbreitet und leicht zu erhalten, wenn man Mist (Kuh, Pferd, Kaninchen, Hund) in feuchter Kammer bei 30—35° C im Dunkeln 8—14 Tage stehen läßt. Am geeignetsten zur Kultur und Untersuchung erwiesen sich Myxococcus ruber n. sp. und Polyangium fuscum (Schroeter) Zukal. Wie schon Thaxter festgestellt hat, ist für alle Myxobakterien ein vegetativer Zustand und eine Periode der Fruchtkörperbildung zu unterscheiden. In ersterem leben die

einzelnen Individuen getrennt von einander, in letzterem sammeln sie sich zur Bildung besonderer Fruchtkörper. Myxococcus ruber bildet sehr einfache Fruchtkörper, kleine, leuchtendrote, halbkugelartige Erhebungen, aus deren Sporen sich auf Mistagar leicht Reinkulturen ziehen lassen. An Stäbchen aus solchen Reinkulturen läßt sich dann ohne Mühe im hängenden Tropfen der ganze Entwickelungsgang verfolgen. Die Sporen sind kleine, glänzende, runde Kügelchen, ohne jede erkennbare Struktur. Bei der Keimung schwellen sie langsam an und verlängern sich zu cylindrischen Stäbchen, ohne dabei irgend eine Sporenhülle abzuwerfen, wie das bei anderen von Thaxter beschriebenen Arten der Fall ist. Stäbchenförmig geworden, fangen sie an, auf ihrer festen Unterlage zu kriechen; zu schwimmen vermögen sie nicht. Bewegungsorgane, wie Geißeln, Schleimfäden etc., konnten nicht aufgefunden werden. Ueberhaupt war über den feineren Bau der Zellen kaum etwas zu ermitteln, selbst eine vom Plasma sich abhebende Membran war auf keine Weise nachzuweisen. Es läßt sich nur aus gewissen Bewegungserscheinungen der Schluß ziehen, daß eine feste Zellwand vorhanden sein muß. Die Vermehrung der Stäbchen erfolgt durch Querteilung, wobei zuerst in der Mitte der Teilungsebene ein heller Punkt auftritt, dem eine langsame Einschnürung folgt, bis schließlich die beiden Tochterzellen auseinanderfallen. Die Sporenbildung geht gewissermaßen in umgekehrter Weise wie die Keimung vor sich. Ein Stäbchen rundet sich allmählich ab, bis es kugelig ist und umgibt sich dann mit einer derben Membran, ein Vorgang, der 3—4 Stunden dauert. Da die ganze Zelle zur Spore wird, liegt hier de Barys Arthrosporenbildung vor. Mit der Sporenbildung hört aber das Einzelleben der Stäbchen auf. Denn an den Orten der Sporenbildung sammeln sich große Mengen vegetativer Stäbchen an, die sich nach und nach alle in Arthrosporen verwandeln. Sie bilden einen zähen Schleim, in dem sich innerhalb einiger Stunden die Sporenmassen als tröpfchenartige Fruchtkörper über die Unterlage erheben. Der Schleim des Fruchtkörpers erhärtet besonders an der Peripherie, bildet aber keine besondere Fruchtkörperhülle aus. Im Gegensatz zu Myxococcus kommt es bei dem zweiten von B. genauer beschriebenen Myxobakterium (Polyangium fuscum) nicht zur Ausbildung von Sporen. Die in das Ruhestadium eintretenden Individuen werden zwar auch etwas kürzer und dicker, bilden aber keine festere Membran aus. Dagegen ballen sich diese Dauerzellen zu dichten, ca. 0,2 mm großen Kugeln, Cysten, zusammen, die ihrerseits eine feste Hülle erhalten. Im Hängetropfen platzen die Cystenwände nach ungefähr 10—12 Stunden und entleeren die Dauerzellen. Diese strecken sich schnell und stark und sind sofort beweglich, wenn auch nur in geringem Maße. Struktureinzelheiten sind ebensowenig wie bei Myxococcus ruber zu erkennen. Schon nach 2 Tagen werden neue Cysten gebildet, ohne daß vorher eine bemerkliche Vermehrung festzustellen wäre. Auf Mistagarkulturen bilden sich nicht einzelne Cysten, sondern zuerst große Sporenhaufen mit sekundären Cystenzentren, sodaß schließlich Häufchen von Cystenkugeln entstehen.

Mit Mixococcus ruber hat Verf. noch besondere physiologische Beobachtungen angestellt. Zuerst über den Bewegungsmechanismus, der aber ebensowenig wie derjenige der Oscillarien aufgeklärt werden konnte. Auch die Untersuchungen über Beeinflussung der Bewegungsrichtung durch äußere Reize ergaben nichts positives. Schwerkraft, Licht, Strömungsrichtung des Mediums, chemische Reize wirkten nicht

auf die Bewegungsrichtung ein. Dagegen zogen die in Sporulation begriffenen Stäbchen die vegetativen Zellen an. Doch wodurch hier der Richtungsreiz im speziellen ausgeübt wird, war nicht festzustellen. Die Sporenbildung selbst wird durch langsames Austrocknen herbeigeführt, sie geht aber auch unter Wasser und im Inneren feuchter, fester Körper (Mistbrei) vor sich und wird auch durch Berührung eines Myxobakterienschwarmes mit anderen Bakterienkolonieen ausgelöst. Die Widerstandsfähigkeit der Sporen ist nicht sehr groß. Vegetative Stäbchen können kurze Zeit Temperaturen von 50° C überstehen, Sporen ertragen in trockenem Zustand einige Minuten lang eine Temperatur von 100° C. Das Temperaturoptimum für die Kultur im ganzen ist 30—35° C.

E. Hannig (Straßburg).

Zacharias, E., Ueber die Cyanophyceen. (Jahrbuch d. Hamburg. wissensch. Anstalt. Bd. XXI. 1903. Mit Taf. 3. Beitr.: Arbeiten a. d. botan. Institut. p. 49—89.)

Die Arbeit bringt neue Untersuchungen und Nachuntersuchungen über die Zentralkörner, die Chromatinkörner, das periphere Plasma, über die Cyanophycinkörner und das Glykogen. Von den Zentralkörnern läßt sich nur das eine mit Sicherheit behaupten, daß sie von den nukleinartigen Bestandteilen der typischen Zellkerne durchaus verschieden sind. Ihr eigentlicher Charakter ist durch keine der bis jetzt bekannten und angewandten mikrochemischen Reaktionen festzustellen. Auch das Vorhandensein von Chromatin läßt sich einstweilen nicht beweisen. Was Kohl in seinem Buch über die Cyanophyceenzelle für Chromatinkörner gehalten hat, scheinen nach Zacharias Nachuntersuchungen Zentralkörnchen gewesen zu sein. Damit werden aber vor allem Kohls „Chromosomen" und zugleich seine Ansichten über das Vorhandensein einer Karyokinese bei der Teilung der Cyanophyceenzelle erschüttert. Die den „karyokinetischen" Bildern Kohls zu Grunde liegenden Strukturen hält Zacharias für Ausstülpungen und Leisten der Zentralkörper, die bei der Durchschnürung des mit Längsrippen versehenen Zentralteils der Cyanophyceenzelle unbedingt auftreten müßten. Im peripheren Plasma glaubt auch Z. den Farbstoff in Gestalt grüner, stark lichtbrechender Grana eingelagert zu sehen, hält es aber für unmöglich zu entscheiden, ob diese Grana die Chromatophoren sind oder nicht. Neben diesen grünen Körnchen liegen im peripheren Plasma die Cyanophycinkörner. Hegler und Kohl hielten diese für Eiweißkristalloide. Abgesehen davon, daß für ihre Kristalloidnatur keine Beweise vorliegen, müssen sie auch nicht als Eiweißkörper angesprochen werden, da sie nach Z. in Pepsinsalzsäure so gut wie unlöslich sind. Auch die Substanz, „die sich gegen Jodpräparate wie Glykogen verhält", findet Z. in anderer Verbreitung wie Kohl. Letzterer erhielt die Glykogenreaktion nur im peripheren Plasma, Z. dagegen bald gar nicht, bald im Zentralkörper oder im peripheren Plasma. Leider gelang es dem Verf. trotz vieler Bemühungen nicht, auch nur einigermaßen sicher zu stellen, wodurch der Gehalt der Zellen an Cyanophycin, Glykogen und Zentralsubstanz bedingt und beeinflußt wird. E. Hannig (Straßburg).

Cannon, M. J., Die Eiweißstoffe und die proteolytischen Produkte. (Allg. Brauer- und Hopfenztg. XLIV. Jahrg. 1904. No. 273.)

Verf. weist zunächst auf die Kompliziertheit des wichtigen Vorganges

der Proteohydrolyse in der Mälzerei und Brauerei hin und bespricht sodann nach geeigneter Klassifizierung der Stickstoffsubstanzen des Malzes die Albumine, Albumosen oder Proteosen, Peptone, Amide und typischen, proteolytischen Enzyme eingehend und unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur. Kausch (Charlottenburg).

Wahl, R. und **Nilson, Avoid,** Bacterial acidity and the functions of peptase during germination of barley and mashing of malt. (The Brewer and Maltster. Vol. XXIII. 1904. No. 10.)

Die Verff. kommen auf Grund eingehender Untersuchungen zu folgenden Resultaten: Die Menge und Beschaffenheit der in Lösung gebrachten Albuminoide hängt von der Temperatur und Dauer der Extraktion ab. Die Temperatur, bei welcher die größte Menge des Eiweißes beim Maischen in Lösung geht, fällt mit der für die Entwickelung der Säure produzierenden Bakterien günstigsten Temperatur (45° C) zusammen. Die bei dieser Temperatur hervorgebrachten Eiweißstoffe sind besonders zur Klärung der Würze geeignet. Jeder Versuch, die Ursache der chemischen Reaktionen, welcher während des Mälzens und Maischens auftreten, zu erklären, ist fruchtlos, wenn dabei nicht die Tätigkeit der Bakterien in Rechnung gezogen wird. Der hervorragendste Unterschied zwischen Mälzen und Maischen besteht in dem Zusammenwirken der lebenden Pflanze und der Bakterien; dieses Zusammenwirken fehlt beim Maischen. Kausch (Charlottenburg).

Zikes, H., Der derzeitige Stand der Biersarcinafrage. (Allg. Zeitschr. für Bierbrauerei und Malzfabrikation. Jahrg. XXXII. 1904. No. 46.)

Verf. gibt einen Ueberblick über die wichtigsten die Biersarcinafrage behandelnden Arbeiten der letzten Jahre. Er gedenkt dabei der Forschungen Reichards, Schönfelds, Barths, Claussens, Wills und Brauns und kommt zu dem Schlusse, daß von bestimmten, bierschädlichen Sarcinen nicht gesprochen werden kann. Es handele sich vielmehr um eine Bakteriengruppe, deren Glieder an Form und Größe sehr variabel sind und, auf verschiedenen Nährböden gezüchtet, verschiedene Eigenschaften aufweisen. Es erscheint ihm auf Grund der starken Beeinflussungen durch die Nährböden nicht angezeigt, ammoniakalisches Hefewasser als Propagierflüssigkeit für bierschädliche Sarcina anzuwenden. Kausch (Charlottenburg).

Schander, R., Die Bildung des Schwefelwasserstoffs durch die Hefe. (II. Jahresber. d. Vertreter f. angew. Botanik. 1903/04. p. 85.)

Ausgehend von den älteren Beobachtungen über das Auftreten des Böcksers, d. h. des Geruchs und Geschmacks nach H_2S im Jungwein, hat Verf. eine große Menge von in der mannigfaltigsten Weise modifizierten Gärversuchen angestellt und dabei ermittelt

1) daß die Fähigkeit der H_2S-Bildung bei den einzelnen Heferassen eine verschieden große ist und im allgemeinen mit der Gärungsintensität in nahem Zusammenhange steht.

2) Die H_2S-Entwickelung ist am stärksten bei Gegenwart von freiem Schwefel. Fehlt dieser, so kann die Hefe organische Schwefelverbindung oder auch Sulfate unter H_2S-Bildung zersetzen. Die letztere Beobachtung erklärt das Auftreten von Böckser in gegypsten Weinen und solchen Mosten, die infolge der Bodenbeschaffenheit oder Düngung reich an Sulfaten sind.

3) Neben H_2S treten auch noch andere Schwefelverbindungen organischer Natur, wahrscheinlich Merkaptane, auf.

4) Die Anwesenheit von freiem S regt die Gärtätigkeit in hohem Grade an; er muß sich in Lösung befinden, um in die Zelle eindringen zu können.

5) Der gebildete H_2S ist als das in einem sehr komplizierten biologischen Prozeß gebildete Stoffwechselprodukt anzusehen.

6) Auch andere Mikroorganismen, wie Bakterien, Kahmhefen, Apiculatus-Hefen und Schimmelpilze vermögen H_2S zu bilden.

Boetticher (Geisenheim).

Müller-Thurgau, Die Vergärung an schwefliger Säure reicher Trauben- und Obstmoste. (Weinbau und Weinhandel. 1903. p. 426.)

Durch die Versuche sollte ermöglicht werden, eine Heferasse zu züchten, welche Moste, die infolge zu hohen Gehaltes an schwefliger Säure nicht in Gärung kommen, zur vollständigen Vergärung bringen. Am empfindlichsten gegen schweflige Säure zeigte sich Saccharomyces apiculatus, 65 mg im Liter verhinderten ihr Wachstum. Verf. empfiehlt deshalb, besonders Obstmoste vor der Gärung schwach einzubrennen, um eine Entwickelung dieser schädlichen Hefe zu verhindern. S. Pastorianus 2 erwies sich ebenfalls als wenig widerstandsfähig. Die verschiedenen Rassen von S. ellipsoideus zeigten sich verschieden empfindlich gegen schweflige Säure, und zwar sind die gärkräftigsten meist die widerstandsfähigsten. Bei Vorhandensein von gärungshemmenden Faktoren zeigte sich die Hefe empfindlicher gegen schweflige Säure. Reichliche Aussaat läßt die Giftwirkung der schwefligen Säure leichter überwinden. Durch fortgesetzte Kultur einer Hefe in Mosten mit schwefliger Säure gelang es, dieselbe widerstandsfähiger gegen das Gift zu machen, derart, daß eine kräftige Hefe noch Moste mit 200 und mehr Milligramm schwefliger Säure pro Liter in lebhafte Gärung zu bringen vermochten. Verf. beschreibt dann ein Verfahren, wie man zu stark eingebrannte Moste zur Vergärung bringen kann.

R. Schander (Geisenheim).

Behrens, J., Ueber einen Einfluß des Stickstoffgehaltes im Moste auf Gärung und Zusammensetzung des Weines. (Weinlaube. 1903. p. 912.)

Verf. hatte früher gelegentlich beobachtet, daß bei Zusatz von Pepton zu Most, der dann mit Reinhefe vergoren wurde, weniger Alkohol gebildet wurde als ohne Peptonzusatz. Experimentelle Versuche zeigten jedoch, daß weder ein Zusatz von Pepton noch ein solcher von Asparagin die Alkoholproduktion herabsetzte, dagegen wurde bei erhöhtem Stickstoffgehalt des Mostes der „Extrakt“ durch die energische Hefetätigkeit stärker angegriffen. Von zwei den gleichen Extraktgehalt zeigenden Mosten kann also der eine, sofern sein Stickstoffgehalt ein höherer ist als bei dem anderen, einen extraktärmeren, an Qualität ärmeren Wein liefern. Nach. Verf. scheint also eine einseitige Stickstoffdüngung zu Reben in mineralstoffärmeren Bodenarten unter Umständen schädigend auf die Qualität des Weines wirken zu können.

R. Schander (Geisenheim).

Meissner, R., Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie der Kahmhefen und der kahmhautbildenden Saccharomyceten. (Weinlaube. 1903. p. 521.)

Diese Abhandlung ist eine vorläufige Mitteilung einer Arbeit Meissners über die Verwendung verschiedener Stickstoffverbindungen seitens der Kahmhefen und über die Vermehrungsfähigkeit von Penicillium, Mucor und Aspergillus auf Nährlösungen, die als alleinige Quelle organischer Substanz organische Säure enthalten.

Entgegen A. Schulz fand Verf., daß einige Kahmheferassen Asparagin als alleinige Stickstoffquelle zu verwenden vermochten. Weniger geeignet war weinsaures Ammonium. In künstlichen Nährlösungen, die neben phosphorsaurem Kali schwefelsaurer Magnesia und Chlorcalcium, entweder phosphorsaures oder salpetersaures oder Chlorammonium und eine organische Säure enthalten, entwickeln sich die Kahme gleich gut. Mit wenig Ausnahmen wachsen die Kahmhefen auf Nährlösungen, die neben salpetersaurem oder Chlorammonium als organische Quelle nur Asparagin enthalten, nur wenig. Bei Ersatz des Asparagins durch weinsaures Ammonium ist das Kahmwachstum sehr gering. Auf Nährlösungen, die neben den oben angegebenen Mineralbestandteilen als Stickstoffquelle phosphorsaures Ammonium und als organische Quelle je eine organische Säure (Essigsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure, Apfelsäure, Zitronensäure) oder Asparagin oder weinsaures Ammonium enthielten, wuchsen und fruktifizierten Penicillium, Mucor, Aspergillus, dabei begünstigten die einzelnen Säuren das Wachstum der einzelnen Pilze in verschiedener Weise. R. Schander (Geisenheim).

Becker, Bakteriologische Vorgänge in der Lederindustrie. (Zeitschr. f. öffentl. Chemie. 1904. p. 447.)

Die Beize der enthaarten Felle, der Blößen, wird je nach der Art des Rohmaterials und je nach den inneren Betriebsverhältnissen und den Ansprüchen an das fertige Leder mit verschiedenen Mitteln und auf verschiedene Weise ausgeführt, in manchen Fällen auch ganz unterlassen. Eine wirklich gute Beize beruht nicht auf einem einzelnen chemischen Vorgang, sondern sie baut sich auf einer ganzen Anzahl von Prozessen auf. Für die biologische Beize werden in der Hauptsache Ansätze oder Aufschwemmungen von Kleie und Stroh, sowie von Tauben- und Hühnermist und von Hundekot angewendet. Wood isolierte aus der Kleienbeize das Bacterium furfuris α und β. Die vielfach ausgesprochene Behauptung, daß der wirksame Mikroorganismus der Stroh- und Kleienbeize der Heubacillus ist, hat sich als unrichtig erwiesen. Schon seit vielen Jahrzehnten hat man es versucht, die unappetitlichen, seuchenverdächtigen Kotbeizen aus den Gerbereien zu entfernen und man ging in dem Bemühen, einen Ersatz für diese Beize zu schaffen, von der Ansicht aus, daß die in dem Kote enthaltenen Chemikalien die wirksame Substanz seien, was jedoch nicht der Fall ist. Verf. hat nun in Gemeinschaft mit Popp und Höflich eine gründliche Untersuchung der in Frage kommenden Kotarten durchgeführt; vollständig unabhängig hat sich auch Wood mit dieser Frage beschäftigt. Durch eine über mehrere Jahre sich erstreckende bakteriologische Untersuchung wurden bei beiden, getrennt verlaufenden Arbeiten etwa 50 (Wood 43, die Verf. 54) verschiedene Arten von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen aus den oben genannten Kotarten isoliert und bestimmt, von welchen der weitaus größere Teil bereits bekannt war. Bei vielen war überhaupt keine Einwirkung wahrnehmbar, bei wenigen wurde eine mehr oder weniger gute Beizwirkung erzielt, während andere die Haut direkt zerstörten. Die isolierten günstig wirkenden Beizbakterien, hauptsächlich der Coli-Gruppe angehörend, wurden teils für sich in Reinkultur, teils auch in Symbiose

mit anderen gezüchtet. Die Schwierigkeiten, welche sich der Herstellung eines richtigen Verkehrsartikels entgegenstellten, wurden überwunden, und heute findet das Präparat eine ausgiebige Anwendung im Großbetrieb. Die Verf. liefern den Fabriken ein graues Pulver, eine Bakterienpropagation in getrocknetem und zerkleinertem Zustande nebst einer Reinkultur des im Verlaufe der Jahre sich unter den in Frage kommenden Arten als bestes erweisenden Bakteriums. Dieses Beizbakterium — Bacillus erodiens — ist ein Darmbewohner, gehört zur Coli-Gruppe und zeigt je nach Art des Nährbodens eine mehr oder weniger starke Entwickelung dem Nährboden entsprechend verschieden zusammengesetzter Gase. Das Gas besteht, aus gewöhnlicher Fleischwasserpeptonbouillon entwickelt, aus 12,12 Proz. CO_2, 3 Proz. O und 84,9 Proz. H. Bei Zusatz von Traubenzucker steigert sich der CO_2-Gehalt auf 40 Proz. Das Bakterium wächst sowohl in neutralem, wie auch in schwach saurem und schwach alkalischem Nährboden. Die Beizwirkung hat man sich so zu denken, daß die in einem geeigneten Gefäß bewegten Blößen von der vorhandenen Beizbrühe und somit auch von in dieser enthaltenen Bakterien durchdrungen werden. Die Mikroorganismen scheiden durch ihre Lebensfähigkeit Enzyme und lösliche unorganisierte Fermente aus. Dabei wird das Eiweiß der Intercellularsubstanz abgebaut. Es entstehen Amine und schließlich Ammoniak neben Gärungssäuren. Die sogenannten Grundseifen werden dadurch abgespalten und löslich gemacht. Auch der Kalk geht in Lösung, und die Fibrillen werden durch die Gasbildung sanft voneinander getrennt, wodurch die Elastizität, Weichheit, Griffigkeit und Zähigkeit des Leders bedingt wird. Stift (Wien).

Busse, Walter, Untersuchungen über die Krankheiten der Sorghum-Hirse. Ein Beitrag zur Pathologie und Biologie tropischer Kulturgewächse. (Arbeiten a. d. biolog. Abteilung f. Land- u. Forstwirtsch. am kais. Gesundheitsamte. Bd. IV. 1904. p. 319—426. Taf. V u. VI.)

Auf wissenschaftlicher Grundlage erörtert Verf. Wesen, praktische Bedeutung und Verhütung der ihm aus eigener Anschauung bekannt gewordenen Krankheiten der Sorghum-Hirse. Die zunächst beschriebene Erkrankung der Blattorgane, die „Mafuta“- oder Assali“-Krankheit, ist eine Verquickung von Schädigungen durch tierische und pflanzliche Parasiten und von klimatischen Einflüssen. Da unter den beteiligten Faktoren aber Blattläuse, Aphis sacchari Zehntn. und A. adusta Zehntn., an erster Stelle stehen, bezeichnet Verf. die Krankheit als „Blattlauskrankheit“. Von den erwähnten, bisher nur als Zuckerrohrparasiten bekannten Blattläusen tritt A. sacchari ungleich häufiger auf als A. adusta. Letztere Art sucht von Anfang an stets die jungen Blattanlagen am Gipfel auf, während A. sacchari sich auf der ganzen ausgewachsenen Pflanze und zwar vorwiegend auf der Unterseite der Blätter ausbreitet. Direkte Folgen des Aphidenangriffes sind Verkrüppelungen und Mißbildungen der jungen und Verfärbungen der ausgewachsenen Blätter. Durch den Aphidenstich entstehen an ihnen zahlreiche, unregelmäßig über die Blattspreite verstreute, orangefarbene bis leuchtend rote oder rostfarbene Flecken, deren meist dunklere Mitte von einem helleren Hof umgeben ist. Mit der Rotfärbung der Zellen ist im nächsten Umkreis des Stiches in den meisten Fällen eine deutliche Schrumpfung der peripherischen Gewebe (Epidermis und Hypoderm) verbunden.

Als indirekte Folge des Aphidenbefalles wird die Absonderung des Honigtaus wichtig. Die pathologische Bedeutung desselben beruht darin, daß er infolge seines Zuckergehaltes zahlreichen Organismen aus den Gruppen der Bakterien und Pilze ein ausgezeichnetes Nährsubstrat darbietet und ihnen, soweit sie parasitische Fähigkeiten besitzen, besonders günstige Vorbedingungen zu deren Ausübung verschafft. Trockene Witterung vorausgesetzt, überziehen sich die Blätter infolge der Honigtauproduktion bald mit einer dichten Rußtaupilzbekleidung, wodurch die assimilatorische Tätigkeit nicht unerheblich beeinflußt wird. Weiterhin vermittelt der Honigtau bakterielle Erkrankungen des Pflanzenkörpers. Die Bakterien wandern entweder durch die Stichkanäle der Blattläuse oder durch die Spaltöffnungen der bis dahin unverletzten Gewebe ein. Folge der Bakterieneinwanderung sind Korrosionen des Gewebes, die nur in wenigen Fällen auf Pektinstoffvergärung, d. h. auf Lösung der Mittellamelle, zumeist auf Zerstörung der Cellulosewand zurückzuführen sind. Bei der Aufschließung der Membranen bildet sich häufig zunächst ein gummöses Produkt, daß die Intercellularräume, bisweilen auch die Zelllumina, erfüllt. Gleichzeitig mit der Celluloseverarbeitung oder als Folgeerscheinung geht Eiweißfäulnis, die Verzehrung des Zellinhalts von statten.

Der Bakteriose fallen Blattspreite, Blattscheide, Stengelrinde und vereinzelt auch jugendliche Blütenstände anheim. Praktisch bedeutsam ist vor allem die eine Zerstörung des Scheidengewebes herbeiführende und dadurch die Lebensdauer des betreffenden Blattes wesentlich schädigende Bakteriose der Blattscheide. Die Erkrankung dringt hier langsam und ungleichmäßig von innen nach außen vor, ist von den charakteristischen Rotfärbungen der betroffenen Gewebepartieen begleitet und beschränkt sich auf das Mesophyll und die Epidermis. Die Gefäßbündel werden nie angegriffen. Unter dem Einflusse der in dem Raum zwischen Stengel und Scheide vielfach vorhandenen konstanten Feuchtigkeit kann die Bakteriose von der Scheide eines Hauptsproßblattes durch Kontaktinfektion auf den in seiner Achsel entspringenden Seitensproß übergehen, eine Erscheinung, die man bei wachsenden Exemplaren auch an den einander deckenden Scheiden des Hauptsprosses beobachten kann.

Das Auftreten der Blattlauskrankheit ist in Ostafrika bei Sorghum immer an abnorme Dürreperioden gebunden, während dieselbe Krankheit des Zuckerrohrs auf Java ihren Höhepunkt in der regenreichen Periode erreicht. Verf. folgert, daß in Ostafrika Aphis sacchari in Dürrezeiten genötigt wird, die Hirse aufzusuchen, weil die eigentliche Nährpflanze durch die Trockenheit so ungünstig beeinflußt wird, daß die Aphiden auf ihnen nicht mehr die erforderliche Nahrung finden.

Eine ziemlich analoge Erkrankung der Sorghum-Hirse wird durch die Tätigkeit einer zur Unterfamilie Delphacinae gehörige Kleinzirpe (Cicadellidae), der Dicranotropis vastatrix Breddin, hervorgerufen. Sie legt ihre Eier in der Blattscheide von deren Innenseite aus ab, und ebenso wie bei dem Aphidenstich findet in der Umgebung der bei der Eiablage entstehenden Wunde eine intensive Rötung des Gewebes, mit mehr oder weniger starker Schrumpfung der angrenzenden Zellen verbunden, statt. Durch Häufung der Legestiche wird die Blattscheide zum Absterben gebracht, namentlich knicken die jüngeren noch zarten Blätter am Grunde um und vertrocknen. Die aus den Eiern sich entwickelnden saugenden Larven sondern reichlich Schleim ab und bilden auf der Blattspreite tiefe und vielverzweigte Stichkanäle,

die wiederum mehr oder weniger eng begrenzte Rötung des betroffenen Gewebes und auf der Scheideninnenseite Pilz- und Bakterieninvasion, sowie Fäulnisprozesse zur Folge haben. Niedere Bakterien sind aber in dem Cikadensekret in ungleich geringerer Zahl vorhanden als in Honigtau der Aphiden, eine Tatsache, die mit der Abwesenheit reduzierenden Zuckers im Aftersekrets von Dicranotropis zusammenhängt.

Zu den tierischen Feinden, welche die Sorghum-Hirse in bisweilen verhängnisvoller Weise heimsuchen, gehören ferner 2 Stengelbohrer, d. h. Schmetterlinge, deren Raupen im Inneren der Stengel leben, durch Aufzehren des Marks mehr oder weniger ausgedehnte Höhlungen schaffen und sich endlich in diesem Gehäuse verpuppen; es sind Sesamia nonagrioïdes Lef. und Busseola sorghicida Thurau. Während Sesamia in Ostafrika erst einmal gefunden wurde, beobachtete Verf. Busseola bei massenhaftem Auftreten. Die Bohrgänge der in den einzelnen Internodien meist einzeln lebenden Raupen sind verschieden gestaltet und erreichen oft ansehnliche Ausdehnung; das Mark färbt sich im Bereich der Tätigkeit der Tiere feuerrot bis dunkelkarmoisin. Die Ausbildung der Blütenstände wird durch den Parasiten zwar nicht verhindert, die befallenen Stengelglieder aber büßen durch die Aushöhlung an Festigkeit ein, so daß die Hirsepflanzen bei stärkeren Winden in der Gipfelregion umknicken und zersplittern, weshalb die Frucht sehr oft nicht zur Reife gelangt.

Im Rindengewebe der Wurzeln fand sich weiterhin eine nicht näher bestimmte Homopterenlarve (eine Jasside?), deren Bedeutung aber keine weittragende zu sein scheint, da überhaupt Wurzelkrankheiten der Sorghum-Hirse infolge der geradezu erstaunlichen Regenerationsfähigkeit des Wurzelsystems ernstlichen Schaden kaum zufügen können.

Unter den auf pflanzliche Schädlinge zurückzuführenden Krankheiten stehen die Brandkrankheiten obenan. Verf. erörtert zunächst die durch die eigenen Untersuchungen in verschiedenen Punkten ergänzten morphologischen und biologischen Verhältnisse der bereits bekannten ostafrikanischen Sorghum-Ustilagineen Ustilago Sorghi (Link) Pass., U. cruenta Kühn und U. Reiliana Kühn, und beschreibt dann Tolyposporium filiferum n. sp.

Die auf der Sorghum-Hirse auftretenden Brandkrankheiten äußern sich entweder in Deformationen der einzelnen Blüten oder — bei Befall durch U. Reiliana — in solchen des ganzen Sproßgipfels.

U. Sorghi bildet seine Sporenlager ausschließlich in den inneren Blütenorganen, namentlich in den Fruchtknoten aus und bewirkt im sonst sich normal entwickelnden Fruchtstand das Entstehen mehr oder weniger zahlreicher Brandkörper, deren Form und Größe, ebenso wie Stärke und Konsistenz des Perisporiums, mit der jeweils befallenen Hirsevarietät außerordentlich wechseln.

Bei U. cruenta fand B. die von Kühn hervorgehobene charakteristische braunrote Färbung des erkrankten Blütenstandes nur spärlich und vereinzelt auf und nahm irgend welche Mißbildungen am Stengel, Verkürzungen und Verkrümmungen der Rispenäste nicht wahr. Das von verschiedenen Sorghum-Varietäten gesammelte Material zeichnet sich übereinstimmend durch Unbeständigkeit des schleierhaft dünnen Perisporiums und durch mehr oder weniger mächtige Entwickelung der rotbraunen, schwach gekrümmten und meist weit über die Spelzen hinausragenden Columella aus. In allen Fällen war die Rispe vollkommen infiziert. Bei Versuchen über den Verlauf der Sporenkeimung und

Konidienbildung in künstlichen Nährmedien gelang es B., die Bildung von Chlamydosporen zu erzielen, ein Erfolg, der seiner Seltenheit wegen die vom Verf. gegebene nähere Beschreibung des Versuchsverlaufes rechtfertigt.

Als die gefährlichste aller bekannten Sorghum-Krankheiten bezeichnet B. den durch U. Reiliana verursachten Brand. Durch Zerstörung des gesamten Meristems des Sproßgipfels wird dieser in eine mächtige, mit ungemein sprödem, gelblichem Perisporium umhüllte und deshalb sehr ephemere Brandbeule verwandelt. Im Inneren derselben liegen die Sporenballen zwischen einem nach dem Verstäuben der Brandsporen frei werdenden Büschel starrer, oft gekräuselter Fäden (Brandfäden), die aus zahllosen isolierten und hypertrophierten Gefäßbündeln bestehen. Bezeichnend für die durch U. Reiliana verursachte Krankheit ist ferner der Umstand, daß in den an das Brandlager angrenzenden Internodien die Gefäße mit einer homogenen, rötlich gefärbten gummösen Masse verstopft werden. Diese Gummose pflanzt sich bis in die Bündel der obersten Blattscheiden fort. Beim Krankheitsverlauf werden außer dem Hauptsproßgipfel meist auch die sich etwa entwickelnden Seitensprosse infiziert, ein Vorgang, den B., entsprechend der von Brefeld für analoge Erscheinungen an perennierenden Gewächsen gegebenen Erklärung, darauf zurückführt, daß bei der Entwickelung von Nebensprossen in den Achseln der Blätter die im peripheren Gewebe der Knoten verbliebenen („erstarrten") Reste des Brandmycels zu neuer Entwickelung angeregt werden und in die jugendlichen Seitensprosse übertreten.

Tolyposporium filiferum n. sp. befällt die Ovarien der Hirse und bildet 10—25 mm lange, 3—5 mm dicke, schwach gebogene, mutterkornartig aus den gesunden Fruchtständen hervorragende Brandkörper aus. Wie bei Ustilago Reiliana tritt an der den Brandkörper tragenden Achse — hier am Blütenstiele — durch Zerstörung des zwischen den Gefäßbündeln befindlichen Gewebes Isolierung und Hypertrophie der letzteren auf.

Als keineswegs harmloser Parasit der Sorghum-Hirse kommt außer den genannten Brandpilzen möglicherweise noch Tolyposporium Volkensii P. Henn. in Frage.

In der Betrachtung über den Verlauf der Brandinfektion weist B. unter anderem darauf hin, daß die Infektion der Infloreszenzen nicht immer schrittweise von der Basis bis zur Spitze vorschreitet, sondern daß auch umgekehrt die Spitzenregion erkranken, die Basis der Infloreszenz dagegen von der Krankheit verschont bleiben, oder daß nur eine Längsseite des Blütenstandes vom Grunde bis zur Spitze infiziert werden kann. Für die Verbreitung der Brandkrankheiten durch Luftkonidien liegen die natürlichen Verhältnisse in den Tropen nicht günstig; die Infektionsgefahr scheint in erster Linie durch Beimischung der Sporen zum Saatgut gegeben zu sein. Die in diesem Falle angebrachte Beizung des Saatgutes ist bei der Gleichgültigkeit der Neger nicht denkbar; als erreichbares Bekämpfungsmittel bleibt deshalb nur das Radikalmittel des Verbrennens der brandigen Rispen bestehen.

In dem die sonstigen Pilzkrankheiten der Sorghum-Hirse zusammenfassenden Abschnitt bespricht B. näher Puccinia purpurea Cooke als obligaten Parasiten, sowie Hefepilze und Fusarium-Arten als Gelegenheitsparasiten.

Die anhangsweise geschilderten Untersuchungen des Verf. über die

Rotfärbungen an der Sorghum-Pflanze gestatten den Schluß, daß diese Verfärbungen an und für sich nicht als pathologische Erscheinungen aufzufassen sind, obgleich sie im Gefolge der meisten Krankheiten der Hirse als Begleiterscheinungen auftreten. Ebensowenig sind sie zu den Herbstfärbungen zu rechnen oder als normale und allgemeine Erscheinung des Absterbens anzusehen. Die Rotfärbung ist eine höchst subtile Reaktion der Sorghum-Pflanze auf jede Störung des chemischen Gleichgewichtes, wird bei ihrem Eintritt von Niederschlägen und Besonnung nicht beeinflußt und steht in keiner Beziehung zum Chlorophyll. Die farblose Muttersubstanz des färbenden Stoffes ist im Zellsaft gelöst enthalten und wird wahrscheinlich mit dem Imbibitionswasser von den Membranen aufgenommen. Seiner chemischen Natur nach scheint der Farbstoff der unerforschten Gruppe der Anthocyanstoffe anzugehören. Beck (Tharandt).

Bates, John M., The finding of Puccinia Phragmitis (Schum.) Koern. in Nebraska. (Journ. of Mycologie. Vol. IX. 1903. p. 219—220.)

Die eben genannte Art wird für Nebraska nachgewiesen. Die Aecidien bewohnen Rheum rhaponticum, Rumex altissimus, R. britannicus und R. crispus. Matouschek (Reichenberg).

Delacroix, Edouard Georges, Sur quelques champignons parasites sur les Caféiers. (Bull. de la soc. mycol. de France. T. XX. 1904. p. 142—151.) Mit 1 Tafel.

Aus Mexiko werden als neu beschrieben: Anthostomella Coffeae, Hendersonia Coffeae und Rhabdospora coffeicola, welche alle ein Vertrocknen der blütentragenden Aeste von Coffea arabica hervorbringen; ferner Phyllosticta coffeicola auf Blättern. Aus Gabun wird eine auf Coffea comoensis auftretende neue Art beschrieben: Phyllosticta comoensis. Capnodium Coffeae Pat. wird auch aus Mexiko nachgewiesen. Matouschek (Reichenberg).

Behrens, J., Mehltau der Quitte. (Bericht der Großherzoglich badischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Augustenburg über ihre Tätigkeit im Jahre 1903. p. 39—40.)

Auf den Quittensträuchern auf Augustenburg trat an einer Stelle im Spätherbst ein Mehltau auf, der zweifellos zur Gattung Sphaerotheca gehört. Es ist anzunehmen, daß es sich hier um einen gelegentlichen Uebergang einer sonst auf andere Wirtspflanzen angewiesenen Sphaerotheca-Art handelt, nicht um eine spezifische Art der Quitte, die neu sein würde. Pósch (Grinád, Ungarn).

Behrens, J., Krankheitserscheinungen am Flieder. (Bericht der Großherzogl. bad. landwirtschaftl. Versuchsanstalt Augustenburg über ihre Tätigkeit im Jahre 1903. p. 42—43.)

Die Fliedersträucher einer Anlage auf Augustenburg erkrankten unter Welken und Absterben der jungen Zweige und Blütenstände und zeichneten sich einige Sträucher auch durch hexenbesenähnliche Zweigbildungen aus. Auf den gewelkten und abgestorbenen Triebspitzen und Aesten waren reichlich die Pykniden von Phoma depressa (Lér.) Sacc. neben einer Dothiopsis-Art (?) zu finden; Infektionsversuche wurden nicht vorgenommen. Pósch (Grinád, Ungarn).

Behrens, J., Einfluß äußerer Verhältnisse auf die Ueberwinterung parasitischer Pilze. (Bericht der Großherzoglich badischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Augustenburg über ihre Tätigkeit im Jahre 1903. p. 28—30.)

Verf. vertritt die Ansicht, daß vielmehr ein milder Winter, als, wie dies gar oft behauptet worden ist, ein strenger Winter den Pilzparasiten schädlich sei, da ersterer eine andauernde Einwirkung anderer Fäulnis und Verwesung erregender Pilze auf die Winterformen und die sie tragenden toten Pflanzenteile gestatte. Es wurden diesbezügliche Versuche mit den Perithecien von Phyllactinia guttata (Wallr.) ausgeführt, die obige Ansicht bestätigten. Pósch (Grinád, Ungarn).

Behrens, J., Beobachtungen über Brandkrankheiten. (Bericht der Großherzoglich badischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Augustenburg über ihre Tätigkeit im Jahre 1903. p. 40–41.)

Mittels Versuchen mit Ohio-Weizen wurde die von v. Tubeuf ermittelte Tatsache bestätigt, daß derselbe in hohem Grade gegen Stinkbrand (Tilletia Caries) immun sei.

Pósch (Grinád, Ungarn).

Behrens, J., Untersuchungen über die Schwankungen bei Keimkraftprüfungen und ihre Ursachen. (Bericht der Großherzogl. bad. landwirtschaftl. Versuchsanstalt Augustenburg über ihre Tätigkeit im Jahre 1903. p. 43—48.)

Orientierende Versuche über den Einfluß der Faktoren, welche bei der Keimanalyse fördernd oder störend in Betracht kommen können, zeigten, daß Infektionen durch Mikroorganismen häufig eine verhängnisvolle Rolle bei der Keimkraftbestimmung spielen, weshalb diesem Punkte besondere Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Als besonders gefährlicher Parasit zeigte sich Aspergillus niger; bei der Infektion von Gelbklee, Wundklee, Steinklee, Schotenklee, Linsen, Bohnen, Esparsette, Seradella, Gerste, englischem, französischem, italischem Raygras, Sorgho, Buchweizen, Spörgel, Tabak, Hanf, Lein, Cichorie, Fenchel, Möhre und Wiensenknopf war überall dessen schädliche Wirkung zu konstatieren. Die sich entwickelnden Keimlinge waren klein, verkrümmt, das Würzelchen glasig, durchscheinend und meistens ohne Wurzelhaare. Bei den Infektionsversuchen mit Aspergillus medius, Mucor pyriformis und Cladosporium herbarum ließ sich eine Beeinflussung des Keimresultates nicht erkennen. Botrytis cinerea trat parasitär nur bei den Leguminosen, Hanf, Cichorie und Buchweizen auf; Penicillium glancum verhielt sich ähnlich wie Aspergillus niger, nur bei Grassämereien war eine schädigende Einwirkung nicht zu erkennen: die Infektionsversuche mit Bacterium coli commune, Bacillus mycoides, B. fluorescens liquefaciens und B. asterosporus fielen negativ aus. Durch die tunlichste Fernhaltung von Infektionen bei der Keimung werden demnach auch die Schwankungen bei der Keimkraftprüfung vermindert. Pósch (Grinád, Ungarn).

Behrens, J., Das Teigigwerden der Mispeln. (Bericht der Großherzogl. bad. landwirtschaftl. Versuchsanstalt Augustenburg über ihre Tätigkeit im Jahre 1903. p. 38–39.)

Als Bewohner der teigigen Früchte wurde Botrytis cinerea, Mucor sp., Monilia fructigena und zwei weitere noch zu studierende Monilia-Formen gefunden, welche letzteren auch von Wunden aus nicht in lebende Aepfel und Birnen einzudringen vermochten, dagegen

auf gekochten Früchten wachsen. Monilia I, die besonders im Kernhaus gefunden wurde, entwickelte sich auf gekochten Birnen, Aepfelschnitten, Pflaumen und Traubensaft in Form oberflächlich wachsender weißer Rasen, die sich bald mit den gelblichen und gelblichgrünen Konidien bedeckten. Diese sind ähnlich gestaltet wie bei Monilia fructigena, nur viel kleiner. ($3,7-6,8 \times 3,4-4,0\ \mu$.) Zwischenstücke werden zwischen den Konidien ebensowenig wie bei M. fructigena gebildet. Monilia II bildet Sklerotien, die bei M. I nicht beobachtet wurden. Wiewohl das Teigigwerden der Mispeln von Wehmen (Obstfäule. Bd. II. 1895. p. 27) auf die Einwirkung von Pilzen zurückgeführt wird, scheint diese Anschauung doch nicht ganz zutreffend zu sein, da den pilzbefallenen teigigen Früchten eine Anzahl solcher gegenüber steht, in denen ein Pilz sich nicht nachweisen ließ. Das Teigigwerden wäre hiermit ein normaler, von Pilzfäulnis verschiedener Vorgang.

Pósch, (Grinád, Ungarn).

Behrens, J., Der rote Brenner der Reben. (Bericht der Großherzogl. bad. landwirtschaftl. Versuchsanstalt Augustenburg über ihre Tätigkeit im Jahre 1903. p. 36—37.)

Im Berichtsjahre gelang es, die vollkommenen Früchte des Brennerpilzes Pseudopeziza tracheiphila aufzufinden und wurde, da eine weitere Ansteckung zu befürchten war, zur sofortigen Bespritzung der gefährdeten Reben mit Kupferkalkbrühe aufgefordert. Es wurde augenscheinlich erwiesen, daß durch derartige frühzeitige Behandlung der Krankheit vorzubeugen sei, nur muß das Verfahren vorgenommen werden, noch ehe die Sporen auf die Blätter gelangen, welcher Zeitpunkt Ende Mai, spätestens Anfang Juni eintritt. Die Verfärbungen, welche rotbrennerkranke Rebenblätter erleiden, sind übrigens allgemein auftretende Symptome des langsamen Absterbens, die auftreten, gleichgültig, aus welcher Ursache das Blatt abstirbt. Nicht immer scheint daher die Pseudopeziza tracheiphila vorzuliegen, welche am Bodensee zweifellos die großen Schädigungen verursacht.

Pósch (Grinád, Ungarn).

Lüstner, G., Untersuchungen über den roten Brenner des Weinstockes. (Bericht der königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1903. p. 190—191.)

Es wurde eine größere Anzahl brennerkranker Blätter auf das Vorhandensein des von Müller-Thurgau als Erreger des roten Brenners bezeichneten Pilzes Pseudopeziza tracheiphila untersucht, ohne denselben jedoch finden zu können, wodurch die Annahme berechtigt erscheint, daß der Krankheit auch noch andere Ursachen zu Grunde liegen. Pósch (Grinád).

Lüstner, G., Untersuchungen über die Sklerotien der Monilia fructigena. (Bericht der königl. Lehranstalt ffir Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Etatsjahr 1903. p. 188—190.)

Es wurden einige Versuche zur Erlangung der Sklerotien der Monilia fructigena ausgeführt und zeigte die dabei erhaltene Dauerform des Pilzes eine sehr viel größere Uebereinstimmung mit typischen Sklerotien, als die von Woronin erhaltenen hautartigen Bildungen. Auf den infizierten Apfelschalen entstanden schwarz ge-

streifte Krusten, welche nach und nach immer deutlicher wurden und sich aus der Schale herauswölbten, wobei sie bis zur Ausgabe der Arbeit eine Länge bis zu 35 mm und eine Breite von 6 mm erhielten. Die Farbe dieser 2—4 mm dicken, verschiedenartig gestalteten Wülste ist tief schwarz; einzelne sind auf ihrer Oberfläche mit einem grauweißen Staube bedeckt. Autor bezeichnet diese Gebilde als beinahe vollkommen entwickelte Sklerotien der M. fructigena und erwartet auch eine Entwickelung der Apothecien. Pósch (Grinád).

Lüstner, G., Zur Biologie der Peronospora viticola de By. (Bericht der königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau für das Etatsjahr 1903. p. 187—188.)

Da der genannte Pilz in den Weinbergen gewöhnlich erst im Juli oder August erscheint, während andere Peronosporeen bereits im März, April und Mai auftreten, scheint es nicht ausgeschlossen, daß die im Sommer notwendige Bodenbearbeitung mit dieser Erscheinung im Zusammenhange steht. Die abgefallenen Blätter, in denen die Oosporen des Pilzes gebildet werden, gelangen im Frühjahr beim ersten Bau der Weinberge in den Boden, wo sie bald vollständig vermodern, wodurch auch diese Sporen frei werden. Ende Juni bis anfangs Juli werden dieselben bei der zweiten Bodenbearbeitung des Weinberges wieder über die Erde gebracht, und können dieselben sodann durch den Wind oder durch auf den Boden aufschlagende Regentropfen leicht auf die Blätter und Beeren übertragen werden, wo eine weitere Entwickelung derselben erfolgt. Die erste Bespritzung hat, wie seither, vor der Blüte zu erfolgen, während die zweite unmittelbar nach dem zweiten Bau der Weinberge vorgenommen werden muß. Die Grabarbeiten müßten in diesem Falle in einer Gemarkung zu derselben Zeit ausgeführt werden. (Referent ist der Ansicht, daß, wiewohl die Verbreitung des Pilzes auch auf oben erwähnte Art und Weise erfolgen kann, trotzdem die erwähnten Bodenbearbeitungen hier keine nennenswertere Rolle spielen, um so weniger, da doch neuerdings durch Istvànffy die Ueberwinterung des Pilzes in der Rebe selbst ermittelt wurde, folglich der Parasit auch schon früher auftreten könnte. Es scheinen hier vielmehr spezifische Nebenumstände mitzuwirken, die sowohl in der eigenartigen Entwickelung des Pilzes selbst als auch in den Wachstums- und Empfänglichkeitsverhältnissen zu suchen sind, wodurch dann, abweichend von anderen Peronospora-Arten, die Verzögerung der Infektion erfolgt.) Pósch (Grinád).

Appel, Ueber bestandweises Absterben von Roterlen. (Naturwissensch. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jahrg. II. 1904. p. 313—320.)

Verf. berichtet über eine im Jahre 1902 in künstlich begründeten Roterlenbeständen Pommerns beobachtete Krankheitserscheinung. Die einzelnen zopfdürr gewordenen oder trockne Aeste aufweisenden 15- bis 20-jährigen Bäume zeigten braune, von der Ansatzstelle eines erkrankten oder abgestorbenen Astes am Stamm herablaufende und ihn mehr oder weniger umfassende $^{1}/_{2}$ bis 2 m lange Streifen, auf denen zahllose kleine Fruchtlager von Valsa oxystoma sich befanden. Die parasitäre Natur dieses schon von v. Tubeuf als Feind der Alpenerle beobachteten Pilzes ließ sich infolge ergebnislos verlaufender Infektionsversuche nicht nachweisen, weshalb Verf. auf Grund weiterer Untersuchung der Standorts- und Witterungsverhältnisse zu dem Urteil ge-

langt, daß die vorliegende Erlenkrankheit auf Zusammenwirken verschiedener Faktoren zurückzuführen ist. Prädisponierend haben Frost und Ernährungsstörungen gewirkt, letztere veranlaßt durch Mangel an atmosphärischer Feuchtigkeit und damit zusammenhängend durch Schwankungen des Grundwasserstandes. Die längere Jahre auf nassem Boden gewachsenen Erlen waren plötzlich auf trockneren Boden angewiesen und wurden dadurch in ihrer normalen Ernährung gestört. Die wirkliche Todesursache der Erlen aber findet Verf. in dem Umsichgreifen von Valsa und mehrerer anderer, auf jüngeren Erlen der verschiedensten Standorte (Dahlem, Mecklenburg) vorgefundener Pilze, die anscheinend unter den gleichen Bedingungen auftreten können. Am häufigsten fand sich eine bisher noch nicht beschriebene Cytospora, etwas weniger häufiger ein Melanconium und noch seltener Cryptospora suffusa.

Um dem Umsichgreifen des Erlensterbens entgegenzutreten, ist Wechsel der Holzart überall dort ins Auge zu fassen, wo eine dauernde Minderung der Feuchtigkeitsverhältnisse eingetreten ist, während bei nur vorübergehender Veränderung des Standorts den kränkelnden Bäumen dadurch zu Hilfe gekommen werden kann, daß man sie auf den Stock setzt. Beck (Tharandt).

Stift, A., Der Gürtelschorf der Zuckerrübe. (Wiener Landwirtschaftliche Zeitung. 1904. p. 872.)

Verf. untersuchte Ende Oktober 7 Zuckerrüben, bei denen Beschädigungen wahrgenommen wurden, die die fragestellende Zuckerfabrik als Folge von Engerlingfraß vermutete. Es konnten allerdings an einigen Rüben Fraßbeschädigungen festgestellt werden, doch waren diese Beschädigungen sekundärer Natur und traten gegen eine Erscheinung weit zurück, welche den Rüben einen krankhaften Charakter verlieh und als „Gürtelschorf" konstatiert wurde. Diese Krankheit besteht in einem Mißraten des Rübenkörpers und berührt die Blätter nicht, so daß sie immer erst bei der Ernte oder beim Ausnehmen aus den Mieten bemerkt wird. Der mittlere, dickste Teil der Rübe zeigt eine eigentümliche Schorfbildung unter erheblichem Dickenwachstum der Rübe an der gleichen Stelle und erstreckt sich dies mehr oder weniger gürtelförmig um den ganzen Rübenkörper oder um einen großen Teil desselben herum. Der Kopf der Rübe wie auch der Rübenschwanz bleiben von der Krankheit unberührt. Besonders charakteristisch ist, daß furchenartige Vertiefungen mit wulstartigen Erhöhungen regellos abwechseln, so daß oft ein Aussehen entsteht, wie dasjenige der Oberfläche eines Gehirnes. Durch diese Erscheinung ist die Krankheit bei einem stärkeren Auftreten verhältnismäßig leicht zu erkennen. Die wulstartigen Erhöhungen waren namentlich bei 4 der untersuchten Rüben deutlich ausgeprägt und besonders stark bei einer 1200 g schweren Rübe, bei der sich rings um den Körper der Rübe die fingerdicken Wülste unter dem Kopf bis zum letzten Drittel des Rübenkörpers herabzogen, um dann allmählich zu verschwinden. Die hervortretenden Wülste bedingen das Dickenwachstum der Rübe, die dadurch ein unförmliches Aussehen erhält, dadurch gekennzeichnet, daß sich der untere Teil des Rübenkörpers jäh verjüngt und die Rübe eine Art keulenförmiges Aussehen annimmt. Genau so wie bei dem eigentlichen Rübenschorf ist das Innere der Rübe vollständig gesund, d. h. die Krankheit stellt nur eine Erkrankung des Haut- und Rindengewebes dar und verursacht niemals eine Fäule nach innen. Verf. will sich nach seinen geringen Erfahrungen über diese

Krankheit noch kein bestimmtes Urteil anmaßen, glaubt aber nicht, daß sie in Beziehung auf die Verminderung des Zuckergehaltes einen besonders gefährlichen Charakter besitzt. Eine im Oktober 1901 untersuchte Gürtelschorfrübe besaß einen Zuckergehalt von 15,9 Proz., war also normal. Die zur selben Zeit im Jahre 1904 untersuchten 7 Rüben zeigten folgende Zahlen:

	I	II	III	IV	V	VI	VII
Gewicht in g	325	447	560	730	770	820	1200
Zucker in der Rübe (Proz.)	15,2	14,4	16,3	15,1	16,0	15,2	14,0

Besonders stark waren die Rüben VI und VII erkrankt und ihnen zunächst standen II und V. Weniger deutlich wiesen den Charakter der Krankheit I und IV auf, wärend bei III eigentlich mehr der gewöhnliche Rübenschorf zum Ausdruck kam und nur einige wulstartige Erhöhungen im oberen Teil der Rübe zu beobachten waren. Die obigen Zahlen sprechen also nicht für die Gefährlichkeit der Krankheit. In den untersuchten Rüben wurden, im Gegensatz zu den Beobachtungen Krügers, Enchytraeiden nicht gefunden; bezüglich des Auftretens von Oospora-Arten, die genannter Forscher ebenfalls für die Entstehung des Gürtelschorfes verantwortlich macht, maßt sich Verf. noch kein Urteil an. Autoreferat.

Krüger, Friedrich, Untersuchungen über den Gürtelschorf der Zuckerrüben. (Arbeiten a. d. Biolog. Abtlg. f. Land- u. Forstwirtsch. am Kais. Gesundheitsamte. Bd. IV. 1904. p. 253—318.)

Nach Sichtung der wichtigsten, zum Teil sich widersprechenden Litteraturangaben über Ursachen und Entstehung des Gürtelschorfes der Rüben und Kartoffeln erläutert Verf. das Krankheitsbild in morphologischer und anatomischer Beziehung, die Verbreitung des Gürtelschorfes und seine Bedeutung für die Zuckerindustrie.

Der Gürtelschorf, eine krankhafte Korkbildung auf der Oberfläche des Rübenkörpers, zeigt sich in sehr verschiedener Form und Intensität. Im leichtesten Falle ist die Rübe nur mit einzelnen kleinen, isolierten, flachliegenden Schorfstellen bedeckt, die sich als Erkrankung des Haut- und Rindengewebes darstellen. In schwereren Fällen hingegen zeigt die Rübe muldenförmige, mit einer braunen, rissigen Borke ausgekleidete Vertiefungen. Der Krankheitsprozeß beschränkt sich dann nicht nur auf die vorgenannten Gewebe, sondern dringt bis zu den Gefäßbündelringen vor und führt dann zum Hinfälligwerden und Abtrocknen der erkrankten Gewebepartien. Anatomisch tragen die Schorfstellen das Gepräge einer mit oder ohne Callusbildung vor sich gehenden Wundheilung.

Unter den als Ursachen des Gürtelschorfes in Frage kommenden Faktoren waren die sich stellenweis vorfindenden, weit häufiger aber fehlenden gewöhnlichen Pilzfäden und Bakterien als offenbar sekundäre Begleiter des Schorfes ohne weiteres auszuscheiden. Als zufällige Faktoren erwiesen sich fernerhin die vereinzelt vorkommenden, der Gattung Tylenchus oder einer nahe verwandten Gattung zugehörenden Aelchen. Wenn überhaupt Parasiten als Erreger der Krankheit in Frage kamen, konnten nur die häufig aufzufindenden äußerst zarten, zur Cohnschen Gattung Streptothrix gehörigen, neuerdings bei Oospora (Wallroth) untergebrachten Pilzfäden und weiterhin kleine Enchyträiden in Betracht gezogen werden. Verf. isolierte aus schorfigem Rübengewebe folgende näher beschriebene Oospora-Formen: Oospora cretacea n. sp., O. rosella n. sp., O. intermedia n. sp., O. tenax

n. sp., O. nigrificans n. sp., O. violacea Gasperini und wies, nachdem die Uebertragbarkeit des Gürtelschorfes im allgemeinen festgestellt war, experimentell nach, daß durch Infektion mit Oospora größere Komplexe des Rübengewebes zum Absterben gebracht werden können. Dabei ergab sich aber, daß das Eindringen der Oospora-Mycelien in das gesunde Gewebe nur durch Vermittelung von Wunden geschieht, eine Beobachtung, die es wahrscheinlich macht, daß die immer an schorfigen Stellen, jedoch nicht an gesunden Teilen gefundenen kleinen Würmer (Enchytraeus Buchholzii Vejd. und Enchytraeus leptodera Vejd.) an der Entstehung des Schorfes beteiligt sind. Die Enchyträiden scheinen aber auch ohne Mitwirkung der Oospora-Arten bisweilen eine Schorfbildung hervorrufen zu können. Dadurch, daß sie infolge ihrer Ernährungstätigkeit einen ständigen Reiz auf die Rübenoberfläche ausüben, wird die Rübe zu abnorm starker Korkbildung angeregt. Nach den Beobachtungen des Verf. ist die parasitäre Natur der Enchyträiden kaum anzuzweifeln; sie schaffen Wunden, die den Oospora-Fäden als Eingangspforten dienen. Wundstellen können ferner entstehen durch ungünstige chemische Beschaffenheit des Bodens, die zu Aetzungen an den unterirdischen Pflanzenteilen führt, durch allzugroße Feuchtigkeit des Bodens, durch Verkrustung desselben und durch Kalkmangel. Es ist jedoch nach den bisherigen Erfahrungen wahrscheinlich, daß Boden- und Feuchtigkeitsverhältnisse erst dann zur Gürtelschorfbildung führen, wenn Angriffe von tierischen oder pflanzlichen Organismen hinzutreten.

Als Verhütungsmaßnahmen empfehlen sich: Vorbeugung einer Verschleppung der in Betracht kommenden Parasiten (Oospora-Arten und Enchyträiden), Austrocknung feuchter Böden durch Drainage u. s. w., Kalkung bezw. gleichzeitiges Austrocknen und Kalken.

Beck (Tharandt).

Zang, Wilhelm, Die Obstfäule. (Deutsche Landwirtsch. Presse. 1904. p. 810.)

Die Erreger der Obstfäule sind hauptsächlich die folgenden Schimmelpilze: 1) der Polsterschimmel, 2) der graue Traubenschimmel, 3) der graugrüne Pinselschimmel, 4) der Köpfchenschimmel und 5) der (selten auftretende) Rosaschimmel. Zur Entwickelung dieser Pilze auf dem Obste muß eine offene Eingangspforte in der Oberhaut vorhanden sein, wodurch dem Pilz das Eindringen in das Fruchtfleisch ermöglicht wird. Der Polsterschimmel verursacht auf dem Kern- und Steinobst oft recht gefährliche Krankheiten; er verursacht nicht allein die Fäulnis der Früchte, sondern auch ganze Zweige können durch seinen Befall zum Absterben gebracht werden. Er findet sich auf Aepfeln, Birnen, Aprikosen, Zwetschken, Kirschen u. s. w. und verursacht hier die Grind- und Schwarzfäule. Die grindartig die Frucht überziehenden polsterförmigen Pilzhaufen haben eine gelbliche bis grauweiße Farbe. Da die grindfaulen Früchte stark zusammenschrumpfen, führen sie den Namen „Fruchtmumien". Dieselben stellen eine große Gefahr für das gesamte Obst im Garten dar, nachdem die Sporen nicht allein auf Aepfel, sondern auch auf Birnen und sogar auf jede Steinobstsorte übergehen. Derselbe Pilz ruft unter besonderen Umständen auch die Erscheinung der Schwarzfäule hervor. Der Traubenschimmel findet sich hauptsächlich auf Weinbeeren, sodann auf Birnen und Erdbeeren. Während er bei dem Obstzüchter ein ungern gesehener Gast ist, steht er bei den Winzern in hohem Ansehen, nachdem er die sogenannte Edelfäule bei günstiger trockener Herbstwitterung hervorruft.

Dagegen ist er hier bei nassem Wetter ebenso schädlich und gefürchtet wie der Polsterschimmel. Bei der Edelfäule entzieht er den Beeren das überschüssige Wasser und konzentriert den Saft. Die eingeschrumpften, rosinenartigen, sehr süßen Beeren werden mit bestem Erfolg zur Weinbereitung benutzt. Die anderen eingangs genannten drei Pilze kommen nur in den Obstlagern vor. Der Rosaschimmel ist der Erreger der Bitterfäule.

Durch die Tätigkeit der Schimmelpilze nimmt die pilzkranke Stelle der Frucht eine bräunliche Farbe an, beginnt allmählich weich zu werden und einzusinken, und zwar dadurch, daß durch die Tätigkeit des Pilzes das Gewebe des Fruchtfleisches abgetötet wird und seinen Zusammenhalt verliert. Auch die wertvollen Inhaltsstoffe der Früchte werden durch den Stoffwechsel der Pilze wesentlich verändert. Stärke und Zucker, und in geringerem Maße die Säure, werden von den Pilzen zu ihrer Entwickelung verwertet. Dafür geben die letzteren wieder eine Menge von Zersetzungsprodukten ab, die auf das noch gesunde Beerenfleisch zerstörend einwirken, wobei die angefaulte Stelle vielfach einen stark bitteren Geschmack erhält. In Bezug auf die Maßregeln zur Verhütung der Obstfäule sind alle mit Grindfäule behafteten Früchte zu sammeln und zu verbrennen oder wenigstens tief unterzugraben. In die Obstlagerstätten dürfen nur gesunde und unbeschädigte Früchte kommen. Die Temperatur im Obstkeller betrage im Herbst etwa 8—10° C. im Winter 2—5° C. Die Aufbewahrungsräume müssen mehr dunkel als hell sein. Vor dem Einlegen der Früchte sind die Obstgestelle und Lager gründlich zu reinigen bezw. zu schwefeln. Letztere Operation sollte man aber niemals vornehmen, wenn sich bereits Obst auf dem Lager befindet, da die schwefelige Säure schädliche Wirkungen auszuüben im stande ist. Das Obst ist sodann auf Stroh, Torfmull oder sonstige Unterlagen nicht zu dicht nebeneinanderzulegen und auszubreiten. Angefaultes Obst ist sofort auszuscheiden. Stift (Wien).

Uzel, Heinrich, Pflanzenschädlinge in Böhmen 1904. (Wiener Landwirtsch. Zeitung. 1904. p. 917.)

Verheerend ist der Getreiderost (Puccinia glumarum) an Roggen und Weizen aufgetreten und wurde durch ihn die Ernte an einigen Stellen fast vollständig, an anderen zur Hälfte vermindert. Große Verheerungen hat ein anderer Pilz (Venturia pirinum) an Birnbäumen angerichtet. Aepfelbäume beschädigte in besonders großem Maße Nectria ditissima, welcher Pilz den sogenannten Krebs verursacht. An den Wurzeln der verschiedensten Kohlarten verursachte Plasmodiophora brassicae sehr häufig mächtige Kröpfe, auf Weichseln trat der Schimmel Monilia auf, die Birnen wurden stark von Gymnosporangium Sabinae heimgesucht, und die edlen Rosen von Sphaerotheca pannosa. Von den Insekten ist an erster Stelle die Blutlaus (Schizoneura lanigera) zu nennen, die Aepfelbäume besonders in Prag und Umgebung vernichtete. Zur Vertilgung empfiehlt sich anfangs März (vor der Knospung) Bespritzung des ganzen Baumes mit einer Mischung von 25 Proz. Petroleum in Wasser oder Spritzung mit einer Emulsion Wasser (72 l), Schmierseife (3 kg) und Petroleum (25 l). Später sind die Blutlauskolonieen von den Stämmen und Zweigen abzureiben und die heimgesuchten Stellen dick mit Teer zu bestreichen. Bei wertvollen Bäumen empfiehlt sich die Bespritzung der grünen Teile mit einer Flüssigkeit, bestehend aus 100 l Wasser, 3 kg Kalk, 4 kg feingemahlenem Naphtalin, 3 kg Tabakextrakt von Syrupkonsistenz und

5 l denaturiertem Spiritus. Zur Vernichtung der unten auf der Erde sitzenden Blutläuse empfiehlt sich die Besprengung der Erde dicht um den Stamm mit 6-proz. Tabakextraktlösung. Die Blattläuse haben Obstbäumen, Zuckerrüben, Kohl und Rosen sehr geschadet. Zur Vernichtung ist das Bespritzen mit einer 2-proz. Tabakextraktlösung, der 5 Proz. denaturierter Spiritus zugegeben wird, zu empfehlen. Unmassen Maikäfer und Gartenlaubkäfer (Phyllopertha horticola) verwüsteten die Bäume und Sträucher. Erdflöhe fanden sich in ungeheurer Anzahl besonders auf Kohl und Zierpflanzen. In großer Anzahl erschienen die Raupen des großen und kleinen Kohlweißlings, und Drahtwürmer beschädigten besonders die Zuckerrüben und das junge Gemüse. Die Obstbäume litten durch die massenhaft auf der Rinde vorkommende Kommaschildlaus (Mytilaspis pomorum). An Roggen hat der Blasenfuß (Limothrips denticornis) bedeutenden Schaden angerichtet, und viele andere Thrips-Arten haben an Erbsen, Bohnen, Gurken und Zierpflanzen geschädigt. Auf Zuckerrüben traten auf die Runkelfliege, der Moosknopfkäfer und der Aaskäfer. Die Milbenspinne hat die meisten Kulturpflanzen, besonders aber den Hopfen und Zierpflanzen, bewohnt. Gallmilben beschädigten mehr oder weniger alle Bäume und Sträucher, besonders die Blätter des Birnbaumes (Phytoptus piri) und der Weinrebe (Ph. vitis). Unter den Würmern traten schädlich die Nematode (Heterodera Schachtii) und Vertreter der Gattung Enchytraeus auf. Die Feldmaus hat ebenfalls einen recht bedeutenden Schaden angerichtet, und der Löfflersche Bacillus Typhi murinum scheint ganz dazu geeignet zu sein, eine wackere und immune Mäusegeneration zu züchten. Stift (Wien).

Wahl, Bruno, Die Hessenfliege oder der Getreideverwüster. (Oesterr. landw. Wochenbl. 1904. p. 395.)

Verf. gibt eine Beschreibung des Schädlings, der jährlich zwei Generationen durchmacht, nachdem die geschlechtsreifen Mücken im April-Mai und dann nochmals im August-September vorkommen. Die Hauptgeneration ist diejenige des Herbstes, wo die Hessenfliege ihre Eier bis Mitte September ablegt und die ausschlüpfenden Larven an den jungen Pflänzchen nahe oberhalb der Wurzel nagen, so daß die Blätter gelb und welk werden und die Pflanzen vielfach absterben. Die Krankheitserscheinung ähnelt sehr derjenigen, die durch die Fritfliege verursacht wird; es können übrigens auch beide Schädlinge gleichzeitig nebeneinander vorkommen. Die Larven verwandeln sich dann in Puppen und aus diesen kriechen zu Ende April wieder Mücken aus, deren Nachkommenschaft das im Juni im Halm stehende Wintergetreide befällt, wobei aber die Larven die Halme oberhalb der unteren Halmknoten benagen, so daß diese dann durch den Wind geknickt werden. Es erinnert dies sehr an die Beschädigungen durch Hagel, durch den Roggenhalmbrecher und durch die Halmfliege. Die Hessenfliege tritt in manchen Jahren geradezu seuchenartig auf und kann eine ganze Ernte vernichten. Reste vernichteter Saaten sind durch Abbrennen oder durch tiefes Unterpflügen samt den darin enthaltenen Larven und Puppen zu vernichten. Ferner soll man die Stoppeln von infiziertem Getreide möglichst lange stehen lassen und in derselben Weise vernichten. Der durch den Samenausfall entstandene Nachwuchs ist in der Zeit von Oktober bis März zu vernichten. Ein weiteres Bekämpfungsmittel ist das Aussäen einigen Furchen von Weizen, Roggen und Gerste gleich nach der Ernte als Fangpflanzen, welche in der zweiten Hälfte

September samt der Brut vernichtet werden. Ganz besonders wichtig aber ist der Schutz des Getreides vor dem Befall der Hessenfliege dadurch, daß man das Wintergetreide möglichst spät, erst in der zweiten Hälfte September, bestellt, desgleichen auch das Sommergetreide. Man kann zwar dadurch den Hessenfliegen nicht ganz ihre Existenzbedingungen rauben, da sie sich in Ermangelung des Getreides auf wildwachsenden Gräsern niederlassen, aber sie werden doch dadurch in ihrer Fortpflanzung beeinträchtigt werden, und die Wintersaat wird der Beschädigung gerade während der gefährlichen Zeit, wo sie noch klein und wenig widerstandsfähig ist, entrissen. Stift (Wien).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Braun, R., Vergleichende Untersuchungen einiger in den letzten Jahren für den Brauereibetrieb empfohlener Desinfektionsmittel. III. Mitteilung. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XXVII. 1904. No. 47.)

Verf. berichtet über die Versuchsergebnisse, welche die Desinfektionskraft des Mikrosols veranschaulichen. Es geht daraus hervor, daß die keimtötende Kraft des Mikrosols 1902 gegenüber den Versuchshefen eine stärkere war als diejenige des Mikrosols 1901, es ändert sich jedoch die Reihe der Desinfektionsmittel hinsichtlich ihrer keimtötenden Kraft nicht. Sowohl das Mikrosol 1901 wie das Mikrosol 1902 steht zwischen dem Antinonnin und Montanin, das Mikrosol 1902 steht aber ebenfalls dem Montanin, Antigermin, Fluorammonium, Aniformin und der Flußsäure in seiner keimtötenden Kraft nach. Bezüglich der entwickelungshemmenden Kraft gegenüber Schimmelpilzen ist die Reihenfolge der nach dieser Richtung hin untersuchten Desinfektionsmittel: Fluorammonium, Montanin, Mikrosol, Flußsäure. Es sind also auch bei dem Mikrosol schon geringe Mengen hinreichend, um Schimmelbildung zu unterdrücken. In der Praxis müssen höhere Konzentrationen als bei Laboratoriumsversuchen angewendet werden.

Kausch (Charlottenburg).

Möller, A., Ueber die Notwendigkeit und Möglichkeit wirksamer Bekämpfung des Kiefernbaumschwammes Trametes Pini (Thore) Fries. (Ztschr. f. Forst- u. Jagdwesen. 1904. p. 677—715. 2 Taf.)

Um über die Verbreitung des Kiefernbaumschwammes in Deutschland und über die Größe des durch ihn hervorgerufenen Schadens genaueren Aufschluß zu erhalten, ist seitens der mykologischen Abteilung der Hauptstation des forstlichen Versuchswesens zu Eberswalde eine ausführliche Umfrage veranstaltet worden, deren interessante Ergebnisse vom Verf. zunächst wie folgt, zusammengefaßt werden. 1) Unter allen deutschen Bundesstaaten wird Preußen mit seinen ausgedehnten Kiefernbeständen am meisten geschädigt. Vielleicht mit Ausnahme des südlichen Teiles der Reichslande, Badens, Württembergs und Bayerns findet der Kiefernbaumschwamm im ganzen Deutschen Reiche die Möglichkeit des Gedeihens; das Gebiet wirtschaftlich bedeutungsvollen Auftretens aber liegt im wesentlichen nur östlich der Linie Rostock, Lüneburg, Magdeburg, Dresden, Görlitz, Neiße. 2) Der durch Zerstörung wertvollen Kiefernaltholzes jährlich verursachte Schaden berechnet sich unter

Einstellung der von 400 preußischen Revieren gebotenen Unterlagen für die preußischen Staatsforsten nachweisbar auf mindestens 1 Million Mark, ist aber wahrscheinlich doppelt so groß und ist unter Berücksichtigung der Verluste in Gemeinde- und Privatwaldungen und in anderen deutschen Bundesstaaten auf mehrere Millionen zu veranschlagen. 3) Bodenbeschaffenheit und Holzqualität stehen mit dem Auftreten des Baumschwammes nicht in Verbindung, hingegen steigt der herbeigeführte Verlust mit dem höheren Alter der Bestände. 4) Die konsolenartigen Fruchtträger des Pilzes treten überwiegend auf der westlichen Seite der Stämme auf, eine Tatsache, die ebenso wie das mehrfach beobachtete nesterweise Auftreten von Schwammbäumen mit der Verbreitung der Sporen in der Hauptwindrichtung von Westen her zusammenhängt.

Die von M. durch 5 Jahre hindurch fortgesetzten eingehenden Untersuchungen über die Biologie des Kiefernbaumschwammes bestätigen im Wesentlichen die Richtigkeit der Veröffentlichungen R. Hartigs und ergänzen dessen Beobachtungen in mancher Hinsicht. Trametes Pini ist ein obligater Parasit, der gesunde Kiefern, in einzelnen Fällen auch Fichten, Tannen, Lärchen und Weymouthskiefern primär angreift und rotfaul macht. Die Infektion erfolgt, da jede Nebenfruchtform fehlt, stets durch eine aus einer Konsole hervorgegangene Spore, und zwar geht die Kernholzerkrankung stets von einem freien, bereits kernholzführenden Aststummel, niemals aber vom Wurzelstocke aus. Da Splintholz nicht angegriffen wird, ist die Kiefer gegen den Pilz vollständig geschützt, so lange sie noch kein Kernholz hat. Nur durch Vermittelung bloßgelegten Astkernholzes gelangt das Mycel der keimenden Spore in das vom einhüllenden Splintholz geschützte Stammkernholz. Die in ihren ersten Stadien an frisch gefälltem Holze für das bloße Auge durch rosarote Färbung der befallenen Teile leicht kenntliche Erkrankung breitet sich in den ersten Jahren nur sehr langsam und zwar vornehmlich in der Richtung der Holzfaser aus. Erst mit dem Größenwerden des Schwammherdes steigert sich die Schnelligkeit der weiteren Ausbreitung erheblich. Von der ersten Infektion eines Stammes bis zum Sichtbarwerden von Fruchtträgern vergehen in jedem Falle wahrscheinlich mindestens 5 bis 10 Jahre.

Die jederzeit nur an Astmündungsstellen sich bildenden Fruchtkörper wachsen fast ausschließlich in den Monaten September bis Januar und sind hierbei auch in dieser Zeit von der Feuchtigkeit außerordentlich abhängig. Mit der Wachstumsperiode der Konsolen fällt die Produktion keimfähiger Sporen im wesentlichen zusammen. Wenn solche wahrscheinlich auch fast während des ganzen Jahres vorkommen können, so sind sie doch im Sommer weit seltener als im Winter. Die sehr alt werdenden Konsolen bilden normalerweise in jedem Jahre eine der alten aufgelagerte, neue, fertile Röhrenschicht und sterben erst dann ab, wenn das Kernholz des Baumes in ihrer Nähe vollständig zersetzt ist.

Da sich die Kalamität durch waldbauliche Maßnahmen nicht bekämpfen läßt, ist, um der Sporenerzeugung vorzubeugen, gründliche und nachhaltige Säuberung der Kiefernbestände von Schwammkonsolen durch Fällung der Schwammbäume mit gleichzeitiger sorgsamer Vernichtung (Verbrennen, Untergraben) der Fruchtkörper anzustreben. Wo der Einhieb der Schwammbäume nicht möglich ist, sind die Konsolen — am besten im Sommer — abzustoßen und zu vernichten. Dem Uebelstande,

daß an der Abbruchstelle der alten Konsole Neubildungen erfolgen, begegnet man in wirksamer Weise durch Ueberstreichen der Abbruchstelle mit Ermischs Raupenleim. Die weitere Unannehmlichkeit, daß ein so geschützter, von Konsolen gereinigter Baum sehr häufig neue Fruchtkörper an anderen Aststellen hervorbringt, erfordert periodische Revision der Bestände und wiederholte Säuberung gelegentlich der Durchforstungen und anderer Wirtschaftsmaßnahmen.

Beck (Tharandt).

Reisch, Ueber einige neue Spezialitäten für die Behandlung des Weines. (Weinlaube. 1903. p. 349.)

Verf. bespricht unter dieser Ueberschrift einige von der Firma Garnier in den Handel gebrachte Geheimmittel. Sterisol und Naflol werden als Weinkonservierungsmittel empfohlen. Sie bestehen nach Verf. aus Salzen der schwefligen Säure und Beimengungen. Sie sind ihrem Gehalte entsprechend viel zu teuer und dabei von wechselnder Zusammensetzung. Verf. hält im allgemeinen das Schwefeln des Weines für besser als den Zusatz von Sulfiten.

Lactocolle-Alfa-Laval soll ein aus steriler Milch gewonnenes Milchalbumin darstellen und wird als Klärmittel für Weine empfohlen. Nach Verf. ist es kein reines Milchalbumin, es dürfte sich nach seiner Ansicht als Klärmittel ebensowenig bewähren als ähnliche Eiweißpräparate.

Sérum acetique soll einen festen Extrakt von Reinkulturen des Bacterium Pastorianum darstellen, in essigstichigen Weinen vorhandene Essigsäure vernichten und eine Weiterentwickelung der Essigbakterien verhindern. Nach Verf. besteht die bräunlich gelbe Flüssigkeit aus sehr starker Kalilauge, die durch organische Substanzen stark verunreinigt ist, der Bodensatz aus Kaliumkarbonat und Eisenverbindungen. Eine Serum ähnliche Wirkung, wie sie der Titel des Mittels vermuten läßt und darin bestehen soll, daß ein Extrakt von Bakterien der einen Art das Aufkommen von Bakterien einer anderen Art verhindert, ist schon deshalb ausgeschlossen, daß in so hochprozentiger Kalilauge (1 l = 675 g Aetzkali) Organismen nicht existieren können. Die Wirksamkeit des Mittels beruht also lediglich in der Abstumpfung der Säure durch Kalilauge. Des weiteren betont Verf., daß durch Zusatz dieses Mittels der Aschengehalt des Weines um nahezu das 3-fache vermehrt, der Geschmack ungünstig beeinflußt wird und der Genuß eines solchen Weines von nachteiligen Folgen begleitet sein würde.

R. Schander (Geisenheim).

Wortmann, J., Ueber ein in neuester Zeit in Frankreich zur Anwendung gebrachtes Verfahren zum Pasteurisieren von Traubenmosten. (Thiels landw. Jahrb. 1904. p. 141.)

Die Gärführung in der Weinbereitung würde eine weitaus sichere sein, wenn es möglich wäre, die Moste zu pasteurisieren und dann mit Reinhefe zu vergären. Dem steht entgegen, daß bei den bisher angewendeten Pasteurisierverfahren der Most infolge der hohen Erwärmung einen unangenehmen Beigeschmack (Kochgeschmack genannt) erhält, der in den vergorenen Weinen besonders stark auftritt. Verf. beschreibt nun ein neues, in Frankreich erfundenes Verfahren, bei welchem die Weine und Moste steril gemacht werden, ohne diesen Kochgeschmack zu zeigen. Im Prinzip beruht dieses Verfahren auf einer schnellen Erhitzung unter Druck und vollkommenem Luftabschluß. Verf. führte mit solchen in Frankreich pasteurisierten Mosten Gärversuche aus, welche

ergaben, daß die Moste in der Tat steril waren, aber weder als Most noch nach der Vergärung Kochgeschmack wahrnehmen ließen.

R. Schander (Geisenheim).

Fürnrohr, Oscar, Infektion durch die Filtermasse. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Jahrg. XXVII. 1904. No. 50.)

Verf. stellte fest, daß durch die Filtermasse eine Infektion herbeigeführt wurde und machte nunmehr Versuche betreffs einer wirksamen Reinigung dieser Masse. Waschen mit bloßem lauwarmen Wasser führte zu keinem befriedigenden Resultat. Hierauf wurden Versuche im Laboratorium mit Natronlauge verschiedener Konzentration angestellt, die mit ansteigender Konzentration bessere Resultate zeitigten. Endlich wurde die Filtermasse mit Wasser von 70—90° C behandelt, wobei sich zeigte, daß bei 90° alle Infektionskeime getötet wurden; erst durch die Luft trat erneute Infektion ein. Um ein gutes Resultat zu erzielen, muß man die Filtermasse fein zerteilen und in kleinen Mengen waschen. Es genügt dann Wasser von 70° C. Kausch (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Berg, Walther, Weitere Beiträge zur Theorie der histologischen Fixation (Versuche an nukleinsaurem Protamin). (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LXV. 1904. Heft 2. p. 298—357. 1 Taf. u. 6 Fig.)

Fischer, H., Die Bedeutung der Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophytischen Streptokokken. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 4. p. 597—617.)

Gordon, M. H., Report on a bacterial test for estimating pollution of air. (The local government board. 32. rapport annuel. 1904. p. 421—471.)

Hofstädter, Erich, Ein neuer Apparat zur Ansammlung von Gärungsgasen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 24. p. 765—768. 2 Fig.)

Köhler, A., Eine mikroskopische Einrichtung für ultraviolettes Licht und damit angestellte Untersuchungen organischer Gewebe. (Ber. d. deutsch. physik. Ges. T. II. 1904. p. 270—277.)

Scaglioni, G., Su un nuovo metodo di colorazione elettiva delle spore. (Riforma med. Anno XX. 1904. N. 49. p. 1349—1351.)

Sellards, A. W., Some researches on anaërabic cultures with phosphorous. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 4. p. 632—637. 2 Fig.)

Serkowski, Stanislaw, Ein neuer Nivellierapparat und dessen Anwendung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 4. p. 637—640. 3 Fig.)

Systematik, Morphologie.

Billet, A., Culture d'un Trypanosome de la grenouille chez une hirudinée; relation ontogénique possible de ce Trypanosome avec une Hémogrégarine. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXIX. 1904. N. 15. p. 574—576.)

Boutan, L., Le Xylotrechus quadrupes et ses ravages sur les caféiers du Tonkin. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXIX. 1904. N. 21. p. 932—934.)

Brumpt, E. et Lebailly, C., Description de quelques nouvelles espèces de Trypanosomes et de l'Hémogrégarines parasites des Téléostéens marins. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXIX. 1904. N. 16. p. 613—615.)

Chester, Frederick D., A review of the Bacillus subtilis group of bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 24. p. 737—753.)

Giles, G. M., Notes on some collections of mosquitoes received from abroad. (Journ. of trop. med. Vol. VII. 1904. N. 24. p. 381—384. 1 Fig.)

Gonder, Richard, Beiträge zur Kenntnis der Kernverhältnisse bei den in Cephalopoden schmarotzenden Infusorien. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. III. 1905. Heft 2. p. 240—262. 3 Taf.)

Guilliermond, A., Recherches sur la germination des spores chez quelques levures. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXIX. 1904. N. 23. p. 988—990.)

Hesse, Edmond, Thelohania Legeri n. sp., Microsporidie nouvelle parasite des larves d'Anopheles maculipennis Meig. (Compt. rend. soc. biol. T. LVII. 1904. N. 36. p. 570—571.)

Lebailly, C., Sur quelques Hémoflagellés des Téléosteens marins. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXIX. 1904. N. 15. p. 576—577.)

Lingard, A., A short account of the various trypanosomata found to date in India in the blood of some of the lower animals and fish. Indian med. Gaz. Vol. XXXIX. 1904. N. 12. p. 445—447.)

—, The trypanosoma of Dourine and its life history. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 4. p. 537—547.)

Löwenthal, Waldemar, Weitere Untersuchungen an Chytridiaceen. 1. Synchytrium anemones Woronin. 2. Olpidium Dicksonii Wille. 3. Zygorhizidium Willei nov. gen. et sp. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. V. 1905. Heft II. p. 221—239. 2 Taf.)

Mégnin, Pierre, Sur la biologie des tiques ou ixodes. (Journ. de l'anat. et de la physiol. Année XL. 1904. N. 6. p. 569—589. 3 Fig.)

Penning, C. A., ¡Les trypanosomes au Indes Néerlandaises. [Suite.] (Janus. Année IX. 1904. Livr. 12. p. 620—626.)

Piery et **Mandoul**, Polymorphisme du bacille de Koch dans les produits de l'expectoration des phtisiques. (Compt. rend. soc. biol. T. LVII. 1904. N. 36. p. 586—588.)

Schüller, Max, Ueber die Chromatinkörper der Krebs- und Sarkomparasiten des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXVII. 1904. Heft 4. p. 547—566. 1 Taf.)

Stefanowska, M., Sur la loi de variation de poids du Penicillium glaucum en fonction de l'âge. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXXXIX. 1904. N. 21. p. 879—881.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

Boullanger, E., La Nitrification. [Suite.] (Bull. de l'inst. Pasteur. Année II. 1904. N. 22. p. 889—895.)

Grassi, B. e **Foà, A.**, Ricerche sulla riproduzione dei Flagellati. 1. Processo di divisione delle Joenie e forme affini. Rendiconti Accad. dei Lincei. T. XIII. 1904. p. 241—253. 17 Fig.)

Grimbert, L., Les bactéries dénitrifiantes et le mécanisme de la dénitrification. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année II. 1904. N. 23. p. 937—947.)

Hesse, Edmond, Sur le développement de Thelohania legeri Hesse. (Compt. rend. soc. biol. T. LVII. 1904. N. 36. p. 571—572. M. Fig.)

Holmes, J. D. E., Evolution of the Trypanosoma evansi. (Journ. of comp. Pathol. and Therap. T. XVII. 1904. p. 210—214. 2 Taf.)

Klein, E., The Horace Dobell Lecture on the life-history of saprophytic and parasitic bacteria and their mutual relation. (British med. Journ. 1904. N. 2292. p. 1506—1510.)

—, The Horace Dobell Lecture on the life-history of saprophytic and parasitic bacteria an mutual relation. (Lancet 1904. Vol. II. p. 1477—1486.)

Neger, F. W., Ueber Förderung der Keimung von Pilzsporen durch Exhalationen von Pflanzenteilen. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. II. 1904. Heft 12. p. 484—490.)

Ost, H., Die Isomaltose. [Schluß.] (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei. u. Malzfabrik. Jg. XXXII. 1904. N. 51. p. 618—622.)

Perdrix, L., Sur un mode spécial de fermentation butyrique du lactase de calcium. (Compt. rend. soc. biol. T. LXII. 1904. N. 33. p. 480—482.)

Rothmann, E. A., Glischrobacterium als Ursache der schleimigen Gärung des Menschenurins. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 4. p. 491—495.)

Schütze, Albert, Ueber Antilaktase. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLVIII. 1904. Heft 3. p. 457—462.)

Vahlkampf, Erich, Beiträge zur Biologie und Entwickelungsgeschichte von Amoeba limax einschließlich der Züchtung auf künstlichen Nährböden. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. V. 1905. Heft 2. p. 167—220.)

Wetzel, G., Das Eisen als das tätige Prinzip der Enzyme und der lebendigen Substanz. Von N. Sacharoff. [Kritische Besprechung.] (Arch. f. Protistenkunde. Bd. III. 1905. Heft 2. p. 263—266.)

Luft, Wasser, Boden.

Le Méhauté, L'eau potable à bord. Captation et distribution de l'eau potable, eau distillée et eau stérilisée. (Arch. de méd. navale. T. LXXXII. 1904. N. 9. p. 223—234.)

Resow, Vergleichende Untersuchungen über den Keimgehalt der Kühlhausluft. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1905. Heft 4. p. 107—109.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Die Fäulnis des Fleisches und die Konservierungsmittel. (Konserven-Ztg. Jg. 1904. N. 51. p. 555–556; N. 62 p. 565—566.)

Lombardo Pellegrino, Paolo, Sul comportamento delle streptotricee e di alcuni bacteri nei Grassi. (Ann. d'igiene sperim. Vol. XIV, Anno 1904. Fasc. 4. p. 533—575.)

Maier, Ad., Die Reichsfleischbeschau-Statistik. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1905. Heft 4. p. 97—99.)

Matschke, Ueber die bei Durchführung des Schlachtvieh- und Fleischbeschaugesetzes gemachten Erfahrungen. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1905. Heft 4. p. 99—103.)

Morelli, Gustav, Dreifacher Fall von Wurstvergiftung (Botulismus). (Wiener med. Wchenschr. Jg. LIV. 1904. N. 46. p. 2163—2167.)

Schmutzer, Zur Geschichte der Fleischbeschau und des Nahrungsmittelverkehrs im 15. und 16. Jahrhundert. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1905. Heft 4. p. 103—107.)

Milch, Molkerei.

Budde, C. C. L. G., En ny Fremgangsmåde til Sterilisation of Maelk. (Ugeskr. f. Laeger 1904. Del 1. p. 397.)

Czaplewski, Ueber Versuche mit dem Loockschen Apparat zur Herstellung von Säuglingsmilch. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspfl. Jg. XXIII. 1904. Heft 11/12. p. 429—439. 1 Fig.)

Jensen, Orla, Studien über die flüchtigen Fettsäuren im Käse, nebst Beiträgen zur Biologie der Käsefermente. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 24. p. 753—765.)

Kolle, Milchhygienische Untersuchungen. (Klin. Jahrb. Bd. XIII. 1904. Heft 3. p. 319—350.)

Martiny, Benno, Zur Frage der polizeilichen Vorschriften über Vorzugsmilch und über den Mindestfettgehalt der Milch überhaupt. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. XV. 1905. Heft 4. p. 109—113.)

Teichert, Kurt, Die Mikroflora der in der Provinz Posen erzeugten Butter. [Dtsche Ges. f. Kunst u. Wiss. Posen.] (Ztschr. d. naturw. Abt. Botanik. Jg. XI. 1904. Heft 1. p. 44—52.)

Wein, Weinbereitung.

Delle, Ed., Les vins pasteurisés et leur analyse chimique. (Moniteur vinicole. Année XLIX. 1904. N. 100. p. 398.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Ahlfeld, F., Seifenkreosol gegen Lysol. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXX. 1904. N. 51. p. 1881—1882.)

de Does, J., Acidum arsenicosum als desinfectans. (Geneesk. tijdschr. voor Nederlandsch-Indië. Deel 44. 1904. Afl. 4. p. 557—560.)

Ferrara, Pietro, Il servizio municipale di disinfezione in Milano. [Contin.] (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVI. 1904. N. 11. p. 513—523. 6 Fig.)

Kausch, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXV. 1904. N. 22/23. p. 689—705. 17 Fig.)

Wernicke, Ueber die Beseitigung der Abfallstoffe, mit besonderer Berücksichtigung der Posener Verhältnisse und des sogenannten biologischen Verfahrens. [Dtsche Ges. f. Kunst u. Wiss. Posen.] (Ztschr. d. naturw. Abt. Botanik. Jg. X. 1903. Heft 1. p. 15—40.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Laubert, R., Eine wichtige Gloeosporiumkrankheit der Linden. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIV. 1904. Heft 5. p. 257—262. 1 Taf.)

Matsdorff, C., Krankheiten im Staate Viktoria (Australien). [Ref.] (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIV. 1904. Heft 5. p. 282—283.)

Microscopic mites. (Natal Agric. Journ. a. mining Record. Vol. VII. 1904. N. 9. p. 849—866. 10 Fig.)

New vine disease at the Cape. (Natal Agric. Journ. a. mining Record. Vol. VII. 1904. N. 10. p. 930—931.)

Schumann, E., Der Eichwald bei Posen. Eine koleopterologische Betrachtung. [Dtsche Ges. f. Kunst u. Wissensch. Posen.] (Ztschr. d. naturw. Abt. Entomologie. Jg. II. 1904. Heft 1. p. 15—21.)

Sedlaczek, Walther, Ueber Schäden durch die kleine Fichtenblattwespe (Nematus abietinus Chr.). (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXX. 1904. Heft 12. p. 481—492. 1 Fig.)

Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Vorrichtungen zum Fange der Heu- und Sauerwurmmotten. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXI. 1904. N. 51. p. 520. 2 Fig.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 6/7.

Ueber den Gehalt an Bakterien in jungfräulichem und kultiviertem Hochmoorboden auf dem Versuchsfelde des Schwedischen Moorkulturvereins bei Flahult.

Von Cand. Pharm. **Otto Fabricius**, Assistent am chemischen Laboratorium, und Dr. **Hjalmar von Feilitzen**, Direktor der Versuchsstation des Schwedischen Moorkulturvereins, Jönköping (Ref.).

Mit 2 Kurven.

Durch die Arbeiten von P. Miquel, R. Koch, L. Adametz, C. Fränkel u. a. war es schon vor Jahren bekannt, daß die oberen Bodenschichten sehr reich an Bakterien sind, und daß die Menge derselben nach der Tiefe zu schnell abnimmt. Der Bakteriengehalt wechselt aber sehr in verschiedenen Bodenarten, und da die Mikroorganismen für ihre normale Entwickelung meistens ein alkalisches oder wenigstens neutrales Medium verlangen, konnte man ja annehmen, daß der saure Hochmoorboden keinen geeigneten Nährboden bilden würde.

Dies scheint auch der Fall zu sein, und E. Warming schreibt darüber[1]): „Ein Boden mit freien Säuren (Humussäuren) sagt den Bakterien nicht zu; infolgedessen sind sie sehr selten in Torf und ähnlichen Bildungen".

A. Stålström[2]) hat in verschiedenen Moorbodenarten den Bakteriengehalt und die Acidität bestimmt, und danach folgende Schlüsse gezogen:

1) Der Hochmoorboden ist in natürlichem Zustande sehr arm an Bakterien.

2) In Niederungsmooren ist die Bakterienvegetation reicher als in Hochmooren.

3) Durch die Entwässerung nimmt der Bakteriengehalt im allgemeinen zu.

4) Die mit Ton gemischten oder mit Stallmist und dergleichen gedüngten Moore sind relativ reich an Bakterien, weil die Lebensbedingungen derselben hier viel günstiger sind.

5) Die Mikroorganismen kommen beinahe ausschließlich in der oberen, 15—25 cm mächtigen Schicht vor. Schon bei 50 cm waren alle Proben (mit einer Ausnahme) steril. Dazu mag noch erwähnt werden, daß diese Sterilität nicht immer konstant blieb. Nach 5—6 Tagen traten auch in den vorher sterilen Kulturen Bakterienkolonien auf. Die Zahlen beziehen sich also auf 40—48 Stunden nach der Herstellung der Kulturen[3]). Die Mehrzahl der Kulturen von 50—100 cm blieb jedoch durchgehend steril.

6) Die Bedeutung der Tonmischung (und der Zufuhr natürlicher Düngemittel) muß also auch von der bakteriologischen Seite berück-

---

1) Plantesamfund. Grundtraek af den ökologiske plantegeografi. Kjöbenhavn 1895. p. 78.

2) Om lerslagningens betydelse. (Finska Mosskulturföreningens årsbok. 1898. p. 44—64.)

3) Nach unserer Ansicht eine allzu kurze Zeit.

sichtigt werden, und besonders auf den Hochmooren können die Mikroorganismen eine große Rolle spielen, indem sie die Zersetzungsvorgänge fördern und den Boden für unsere Kulturgewächse günstiger machen.

Ueber den Bakteriengehalt auf unkultiviertem und kultiviertem Hochmoorboden auf dem Versuchsfelde bei Flahult haben wir im Jahre 1904 ziemlich ausgedehnte Untersuchungen ausgeführt und geben die Resultate hier wieder, da sie einen Beitrag zur Kenntnis der bakteriologischen Vorgänge in diesem von der Natur aus so ungünstigen Boden liefern.

Das Versuchsfeld liegt auf 57° 43' nördlicher Breite und 222,8 m über dem Meeresspiegel.

Was die Witterungsverhältnisse betrifft, so gehen sie aus den folgenden Zahlen hervor.

	Beobachtungsjahre	
	1902	1903
Niederschlagsmenge in mm	506,6	645,3
Mittlere Jahrestemperatur in ° C	3,16	4,67
Zahl der Frosttage	195	166

Der Boden besteht aus einem typischen Hochmoor, dessen hauptsächliche Vegetation sich aus Sphagna, Cladoniae, Calluna, Eriophorum und vereinzelten Krüppelföhren zusammensetzt.

Der Torf ist sehr wenig zersetzt, aus Sphagnum mit Einmischung von Eriophorum gebildet, und die Mächtigkeit beträgt im Durchschnitt 3 m. Der Untergrund ist Sand.

Die chemische Zusammensetzung des Bodens geht aus folgenden Analysen hervor:

(Die Proben wurden verascht und die Asche mit Salzsäure von 1,12 sp. Gew. gekocht.)

	0—30 cm Proz.	30—60 cm Proz.
Organische Stoffe	98,05	98,60
Eisenoxyd und Tonerde	0,24	0,29
Kalk	0,21	0,19
Kali	0,09	0,08
Phosphorsäure	0,09	0,06
Schwefelsäure	0,11	0,13
Ungelöste und nicht bestimme Stoffe	1,21	0,65
Zusammen	100,00	100,00
Stickstoff	0,94	0,97

Die Proben zur bakteriologischen Untersuchung wurden jedesmal auf 5 verschiedenen Plätzen genommen.

No. 1. Jungfräuliches, nicht kultiviertes Hochmoor. (Im vorigen Jahre wurden die großen Abzugsgräben gezogen, was jedoch bis jetzt keine merkbare Einwirkung auf den Grundwasserstand ausgeübt hat.)

No. 2. Entwässerte, nicht kultivierte Fläche, 20 m breites Beet, Grüppen 50 cm tief. Die Gräben im Herbst 1895 gezogen.

No. 3. Mit Sand gemischtes Hochmoor. Erstes Kulturjahr: Hafer. 20 m breites Beet, 50 cm tiefe Grüppen, im Winter 1903—1904 mit 250 cbm Sand auf 1 ha befahren, der Sand mit der Mooroberfläche durch Eggen gemischt, 89 hl gelöschten Kalk = 3500 kg CaO auf 1 ha gekalkt; ungedüngte Parzelle.

No. 4. Mit Sand (500 cbm auf 1 ha) gemischtes Hochmoor, altes Kulturland. Hafer. 20 m breites Beet, 120 cm tiefe Grüppen. Im Jahre 1891 kultiviert, gekalkt in den Jahren 1892—1899 jedes Jahr, gedüngt mit Kunstdünger und 1893, 1897 und 1898 Stallmist. Versuchs-

pflanzen: 1893 Gerste, 1894 Kartoffeln, 1895 Erbsen, 1896 Hafer, 1897 Kartoffeln, 1898 Erbsen, 1899 Kartoffeln, 1900 Peluschken, 1901 Kartoffeln, 1902—1904 Hafer.

Der Hafer wurde in diesem Jahre wegen zu argen Unkrautwuchses am 1. August grün geschnitten und die Stoppeln sofort umgepflügt.

No. 5. Mit Sand (500 cbm auf 1 ha) gemischtes Hochmoor, altes Kulturland. Brache. 22 m breites Beet, 120 cm tiefe Grüppen. Im Jahre 1894 kultiviert, gekalkt in den Jahren 1895, 1897, 1898, 1900, 1901, 1903 und 1904, gedüngt mit Kunstdünger und 1895 mit Stallmist. Versuchspflanzen: 1895 Hafer, 1896—1899 Wiese, 1900, 1901 Hafer, 1902 Kartoffeln, 1903 Hafer, 1904 wurde die Fläche gebracht, mit 30 hl gelöschtem Kalk gekalkt und am 15. August mit 45000 kg Stallmist, 300 kg Algierphosphat und 100 kg 38-proz. Kalidünger gedüngt. Am 3. September wurde Winterroggen gesäet.

No. 6. Mit Sand (500 cbm auf 1 ha) gemischtes Niederungsmoor, altes Kulturland. Hafer. Der Boden besteht aus gut zersetztem Riedgrastorf mit spärlicher Einmengung von Hypnumresten.

Mächtigkeit 0,2—0,3 m. Kultiviert 1891. Gekalkt 1892—1898 jedes Jahr. Jedes Jahr nur Kunstdünger. Versuchspflanzen: 1893 Hafer, 1894 Sommerweizen, 1895 Rüben, 1896, 1897 Hafer, 1898 Rüben, 1899 Gerste, 1900 Peluschken, 1901 Hafer, 1902 Rüben, 1903, 1904 Hafer. Hier wurden Proben nur einmal zum Vergleich genommen.

Die Proben zur bakteriologischen Untersuchung wurden mit einem sogenannten Blyttschen Bohrer genommen, der mit Verschließvorrichtung versehen ist, und konnten so gegen Infektion von außen möglichst geschützt werden. Sie wurden jedesmal von der Oberfläche bis 35 cm Tiefe auf 8 verschiedenen Stellen des betreffenden Ackers herausgenommen, in eine Glasbüchse mit luftdichtem Verschluß gebracht und nach dem Laboratorium mitgenommen.

Bei der Probenahme wurde auch gleichzeitig Lufttemperatur und Bodentemperatur bei 35 cm Tiefe gemessen.

In den Proben wurde die Feuchtigkeit bestimmt, und einmal auch der Gehalt an Kalk, Stickstoff und freien Humussäuren [1]) festgestellt.

Die Methode der Auszählung der Bakterien schloß sich genau an das von L. Hiltner und K. Störmer angegebene Verfahren [2]), und es wurde also die gewöhnliche Fleischpeptongelatine als Nährboden benutzt, die Kulturen im Thermostaten bei 20° C 10 Tage lang gehalten, die Bakterienkolonien jeden Tag abgezählt und die verflüssigenden mit Höllenstein „abgestiftet".

Von jeder Probe wurden 4 Petri-Schalen angesetzt.

Die Proben wurden am 30. Mai, 27. Juni, 27. Juli, 29. August, 30. September und 31. Oktober genommen.

Ehe wir das Ergebnis der Untersuchungen wiedergeben, wollen wir nur zuletzt als Ergänzung die meteorologischen Daten während der Versuchsperiode mitteilen.

1) Nach Tacke, Chemiker-Zeitung. 1897. p. 174.

2) Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens, mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens nach einer Behandlung mit Schwefelkohlenstoff und nach Brache. (Arbeiten aus der Biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am Kaiserlichen Gesundheitsamte. Bd. III. 1903. Heft 5.)

Monat	Niederschlagsmenge mm	Mittlere Monatstemperatur °C	Mittel der Minimaltemperaturen °C	Mittel der Maximaltemperaturen °C	Zahl der Frosttage
Mai	85,3	6,9	1,0	12,2	10
Juni	35,6	12,0	4,7	17,9	3
Juli	11,6	14,0	4,5	21,4	6
August	107,3	12,2	5,3	19,3	2
September	79,5	8,6	1,9	12,5	10
Oktober	82,2	4,7	—0,4	8,6	15

Die Proben enthielten in wasserfreiem Zustande

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
Kalk	0,20	0,20	1,57	1,34	0,94	0,59
Stickstoff	1,32	1,24	0,70[1])	0,88[1])	0,86[1])	1,97
Freie Humussäuren, berechnet als Kohlensäure	2,16	2,32	0,38	0,28	0,30	0,39

Wassergehalt der Proben in Prozenten.

Monat	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
30. Mai	90,48	89,22	70,84	63,53	63,98	—
27. Juni	90,34	88,65	66,49	64,16	71,74	—
27. Juli	89,18	87,70	65,10	52,90	65,04	52,12
29. August	91,22	88,82	69,48	61,84	63,32	—
30. September	90,81	88,77	53,62	70,39	69,29	—
31. Oktober	91,31	88,81	79,06	72,86	73,73	—
Mittel sämtlicher Analysen	90,56	88,66	67,43	64,28	67,85	—

Luft- und Bodentemperatur bei der Probenahme °C.

Monat	Lufttemperatur	Bodentemperatur bei 35 cm Tiefe					
		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
Am 30. Mai	18,0	7,2	7,5	9,0	9,0	9,5	—
„ 27. Juni	12,2	8,2	9,4	11,2	11,2	11,2	—
„ 27. Juli	25,4	12,3	12,0	15,7	15,7	13,4	17,6
„ 29. August	17,8	11,4	11,7	12,6	11,7	11,9	—
„ 30. September	12,6	9,2	9,2	9,6	9,9	9,8	—
„ 31. Oktober [2])	—	—	—	—	—	—	—
Mittel der Temperatur Mai—September	17,2	9,66	9,96	11,62	11,50	11,13	—

1) Der prozentische Stickstoffgehalt der Ackerkrumenschicht sinkt durch die Sandmischung.

2) Das Thermometer fungierte nicht, weshalb wir die Zahlen für Oktober nicht wiedergeben können.

Bakterien in 1 g Erde (feucht).

Monat	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
Am 30. Mai	56 000	204 000	4 797 000	1 740 000	887 000	—
„ 27. Juni	81 000	99 000	7 721 000	4 447 000	10 339 000	—
„ 27. Juli	225 000	384 000	8 129 000	9 275 000	7 001 000	7 175 000
„ 29. August	192 000	362 000	9 823 000	12 483 000	22 132 000	—
„ 30. September	144 000	64 000	7 771 000	4 774 000	4 104 000	—
„ 31. Oktober	133 000	89 000	3 160 000	4 629 000	4 346 000	—
Mittel sämtlicher Untersuchungen	138 500	200 300	6 900 400	6 224 500	7 801 600	—

Wie aus der ersten Tabelle hervorgeht, sind die Monate Juni und Juli außerordentlich trocken gewesen, und die Niederschlagsmengen standen ganz bedeutend gegen die eines normalen Jahres zurück.

Der Feuchtigkeitsgehalt der oberen 35 cm des Bodens war aus natürlichen Gründen höchstens auf dem unkultivierten Hochmoore (No. 1) oder im Mittel 90,56 Proz. und die Schwankungen waren hier sehr gering (89,18—91,31).

Durch die Entwässerung (No. 2) hat der Wassergehalt nur mit ein paar Prozenten abgenommen (Mittel 88,66) und auch hier hielt sich der Feuchtigkeitsgehalt innerhalb kleiner Grenzen (87,70—89,22 Proz.).

Ganz anders verhielten sich die kultivierten Hochmoorbeete No. 3, 4, 5. Hier war der Wassergehalt bedeutend niedriger, nämlich im Mittel 67,43 resp. 64,28 und 67,85 Proz. und die Schwankungen zwischen dem höchsten und niedrigsten Feuchtigkeitsprozent betrugen 25,44 resp. 19,96 und 10,41 Proz.

Der niedrige Wassergehalt beruht teils auf der Sandmischung in der Ackerkrume, teils auf der Wasserverdunstung der Kulturgewächse und der Bearbeitung des Brachebodens.

Wenn wir uns dann der Bodentemperatur zuwenden, so war auch diese sehr verschieden auf den verschiedenen Beeten, und hier wurden die niedrigsten Zahlen auf dem jungfräulichen Moor beobachtet. Die bloße Entwässerung hat die Temperatur sehr wenig beeinflußt. Die Erhöhung betrug im Mittel nur 0,3° C. Dagegen war der Boden auf den besandeten und kultivierten Beeten während der ganzen Vegetationsperiode bedeutend wärmer, und die Temperaturerhöhung betrug hier im Mittel beinahe 2° C.

Die höchste Bodentemperatur bei 35 cm Tiefe bei einer Einzeluntersuchung wurde auf dem Niederungsmoor gemessen.

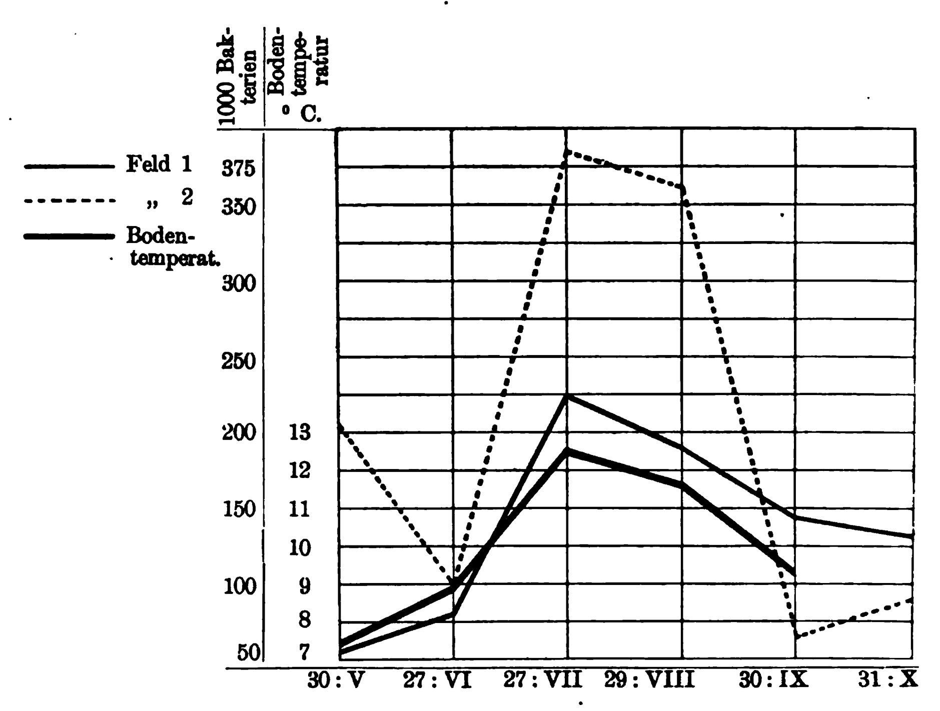
Aus den chemischen Untersuchungen geht hervor, daß der Kalkgehalt in natürlichem Hochmoor sehr gering war, dagegen war er auf den kultivierten und gekalkten Beeten ungefähr befriedigend.

Der Stickstoffgehalt ist in den Hochmoorproben durchgehend niedrig und muß durch Stickstoffzufuhr in der Düngung ersetzt werden. In dem Niederungsmoor ist er dagegen befriedigend.

Schließlich ist der Gehalt an Humussäuren sehr hoch auf dem unkultivierten Hochmoor (No. 1 und 2), aber durch Besandung, Kalkung und Düngung hat er von über 2 Proz. bis auf rund 0,3 Proz. abgenommen, was auf der Neutralisation durch die basischen Stoffe beruht.

Wir sind jetzt bei der letzten und für diesen Bericht wichtigsten Tabelle, zu dem Bakteriengehalt des Bodens, angelangt, und wollen dieselbe etwas eingehender besprechen.

No. 1. Unkultiviertes Hochmoor enthielt im Verhältnis zu



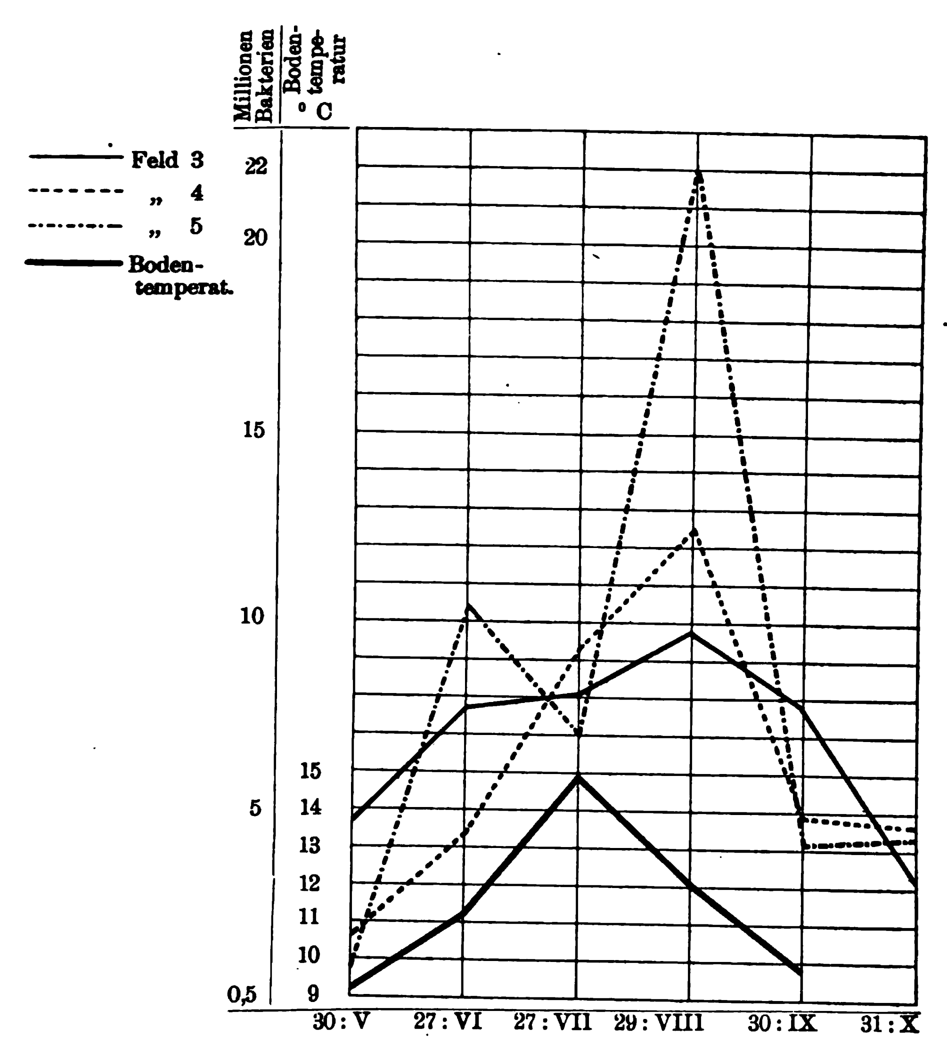
den kultivierten Beeten in der oberen 35 cm mächtigen Schicht sehr wenig Bakterien (nur $^1/_{50}$ der No. 3, 4 und 5), aber der Gehalt derselben wechselt auch hier mit der Jahreszeit und steigt und fällt mit der zu- oder abnehmenden Bodentemperatur.

No. 2. Entwässertes, nicht kultiviertes Hochmoor verhielt sich in bakterieller Beziehung ungefähr wie No. 1. Die Schwankungen sind etwas größer, und im Mittel war der Gehalt etwas höher als auf dem ersten, aber man kann doch keine besonders große Einwirkung der Entwässerung in dieser Beziehung wahrnehmen.

No. 3. Mit Sand gemischtes Hochmoor. Erstes Kulturjahr Hafer, ungedüngt. Mit einem Male steigt der Bakteriengehalt von im Mittel 200000 auf beinahe 7 Millionen, was natürlich darauf beruht, daß die Humussäuren durch den Kalk neutralisiert wurden, infolgedessen sich die Lebensbedingungen für die Kleinwesen bedeutend günstiger gestalteten und außerdem mit dem Sande eine Menge neuer Bakterien eingeimpft wurde. Auch hier steigt und fällt der Bakteriengehalt parallel mit der Bodentemperatur. (Die Schwankungen lagen zwischen 3160000—9823000.)

No. 4. Mit Sand gemischtes Hochmoor, altes Kulturland, Hafer, verhielt sich genau so wie No. 3 (Schwankungen 1740000—12483000). Die hohe Zahl für August beruht wahrscheinlich darauf, daß der Hafer infolge zu starken Unkrautwuchses am 1. August grün geschnitten wurde und die Stoppeln sofort umgepflügt wurden.

No. 5. Mit Sand gemischtes Hochmoor, altes Kulturland, Brache, war zuerst sehr arm an Bakterien (infolge zu großer Nässe konnte es im Herbst 1903 nicht umgepflügt werden). Im Juni nahm der Gehalt rapide zu, nachdem der Boden öfter bearbeitet worden war, sank dann im Juli etwas und stieg im August bis auf 22 Millionen,



nachdem am 15. August eine Stallmistdüngung gegeben wurde. Anfang September wurde Roggen gesät und dann sank die Bakterienzahl wieder.

No. 6. Mit Sand gemischtes Niederungsmoor, altes Kulturland, Hafer. Hier wurden zum Vergleich im Juni einmal Proben genommen. Der Bakteriengehalt war ebenso hoch als auf den kultivierten Hochmoorbeeten.

Aus den ausgeführten bakteriologischen Untersuchungen kann man also folgende Schlüsse ziehen:

1) Der Hochmoorboden ist in natürlichem Zustande ziemlich arm an Bakterien, was mit der sauren Reaktion des Bodens zusammenhängt.

2) Durch die Entwässerung allein wird die Bakterienflora sehr wenig beeinflußt.

3) Durch Kalkung, Besandung, Bearbeitung und Düngung nimmt der Bakteriengehalt außerordentlich zu, weil die Lebensbedingungen der Mikroorganismen ge-

fördert und mit dem Sande neue Bakterien zugeführt werden.

4) Eine Stallmistdüngung erhöht ganz bedeutend den Bakteriengehalt.

5) Die Zahl der Bakterien scheint auf einer gut gedüngten und gepflegten Hochmoorkultur ebenso hoch zu sein als auf Niederungsmoorkulturen unter denselben äußeren Bedingungen.

6) Der Bakteriengehalt steht in einem engen Zusammenhange mit der Bodentemperatur und steigt und fällt parallel mit derselben.

Zum Vergleich mit den obigen Bakterienzahlen mag erwähnt werden, daß Hiltner und Störmer bei ihren Untersuchungen (a. a. O. p. 530) in einem mittelschweren Lehmboden (mit Stallmist gedüngte Brache) im Mittel 9555000 Bakterien auf 1 g Erde fanden, also nur unbedeutend mehr als auf unseren Hochmoorkulturen.

Einige Berichtigungen und weitere Mitteilungen zu der Abhandlung: „Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen".

(Cf. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. No. 1/3, 6/8, 11/16.)

[Zusammenfassende Darstellung nach der einschlägigen Literatur unter Verwertung eigener Beobachtungen und Untersuchungen[1]).]

Von Dr. **Berthold Heinze** in Halle a. S.

(Schluß.)

Wollte man übrigens gegenwärtig mit der Hiltnerschen Methode in bekannter Weise gleichzeitig eine Zählung bestimmter Organismen annäherungsweise vornehmen, was ja als ein besonderer Vorteil derselben hingestellt wird, so muß man Löhnis wohl unbedingt recht geben, wenn er weiterhin folgendes ausführt:

„Da nun, soviel bis jetzt bekannt, an jeder wichtigen Umsetzung im Boden eine größere oder kleinere Zahl verschiedener Bakterienarten (besser wäre wohl Organismen zu setzen. D. Ref.) beteiligt ist, so würde notwendigerweise auch in diesem Falle das Zählen sehr leicht zu irrtümlichen Schlüssen Veranlassung geben können. Es ist doch, um einen bestimmten Fall anzunehmen, möglich, daß die etwa in 1 g des einen Bodens vorhandenen 2 Millionen sehr wirksamer Ammoniakbildner eventuell eine viel größere Wirkung ausüben als die in 1 g eines anderen Bodens sich vorfindenden 5 Millionen Bakterien, die zwar zur gleichen physiologischen Gruppe gehören, aber nur eine relativ schwache Tätigkeit entfalten. Auf den wichtigen Umstand der differenten Qualität der zu einer bestimmten Gruppe gehörenden Bodenbakterien weist auch Remy in seiner Arbeit (s. p. 659) hin."

Im übrigen gedenkt Verf. auf die hier vorliegende Arbeit Löhnis

---

1) Anmerkung: Diese Beobachtungen und Untersuchungen sind vom Verf. zum Teil schon während seiner Tätigkeit an der landw. Versuchsstation in Colmar i./E. gemacht worden, zum Teil jedoch erst während seiner Tätigkeit an der hiesigen landw. Versuchsstation.

in einem späteren Aufsatze nochmals zurückzukommen, da er sich mit manchen Ausführungen desselben keineswegs unbedingt einverstanden erklären kann.

Hier muß jedoch noch erwähnt werden, daß nach Löhnis speziell eine Entwickelung N-fixierender Bakterien, nämlich der Azotobakterorganismen in der bekannten Beijerinckschen Nährlösung mit allerdings nur 1 Proz. Mannit während eines Zeitraumes von 4 Wochen in den Versuchsgefäßen, die mit weniger als 0,1 g Erde geimpft waren, nur sporadisch eintrat und dies mit den Angaben von Beijerinck (cf. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 568) übereinstimmt, daß es nämlich zur Erzielung einer guten Rohkultur von Azotobakter und dessen Begleitern nötig sei, die Mannitlösung mit einer reichlichen Menge 0,1—0,2 g Erde zu versetzen. Auch gibt er an, daß es nach Gerlach und Vogel (cf. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 674) sogar empfehlenswert ist, von einer wesentlich größeren Menge (20 g Erde) auszugehen.

Hierzu kann Verf. zunächst ergänzend berichten, daß auch er vor schon mehr als 2 Jahren bei seinen Versuchen, Vegetationen von N-sammelnden Organismen zu gewinnen, nur in den seltensten Fällen Erfolg hatte, wenn er nur relativ geringe Mengen Erde zum Impfen der Kulturflüssigkeiten verwandte; fast regelmäßig erhielt er jedoch recht üppige Vegetationen unter kräftigen Kahmhautbildungen, wenn er mit größeren Mengen Erde impfte (1—10 g pro 100 ccm Kulturflüssigkeit). Von orientierenden Versuchen abgesehen, welche Verf. im vorigen Jahre, sowie auch den letzen Winter hindurch gelegentlich anstellte, um über die etwaigen Azotobaktervegetation von Teilstücken des Lauchstädter Versuchsfeldes, die eine ganz verschiedenartige Düngung erhalten hatten, etwas Näheres zu erfahren, suchte sich Verf. im Frühjahr, Sommer und Herbst des laufenden Jahres auch darüber zu orientieren, inwiefern etwa unter anderem die Azotobakterorganismenflora von ein und demselben Boden, der zunächst zu anderen Zwecken in kleine Parzellen geteilt worden war, durch eine verschiedenartige Behandlung möglicherweise stark beeinflußt wurde. Die behandelten Böden mögen einstweilen hier einfach mit der Nummer der Parzelle, nämlich mit I—XI bezeichnet werden, da auch diese speziellen Beobachtungen etwas ausführlicher anderweitig erst mit all den anderen Untersuchungsergebnissen bekannt gegeben werden. Es muß jedoch besonders bemerkt werden, daß immer 2 Parzellen (I und VII, II und VIII, III und IX, IV und VI) eine gleichartige Behandlung erfahren haben und 1 Parzelle (XI) ohne jedwede Behandlung geblieben war. Bei der Prüfung auf etwaige Azotobaktervegetation mit der für gewöhnlich verwandten sogenannten N-freien Nährlösung mit 1 Proz. Dextrose als C-Quelle [nennen wir sie einfach Lösung D (L_d)] unter Verwendung von 1 g Impferde pro 100 ccm L_d konnte nun vor der Behandlung bei keiner einzigen der 11 Parzellen mit der betreffenden Impferde eine nennenswerte Vegetation auch mikroskopisch nicht nachgewiesen werden, obschon nach anderweitiger Prüfung (verändertem Nährboden und Verwendung weit größerer Bodenmengen: L_d 0,1 Proz. Calciumlaktat, 10 Proz. Erde) Azotobakter in allen Parzellen ziemlich reichlich vorhanden sein mußte. Die Entnahme der Impferde geschah natürlich in geeigneter sorgfältiger Weise aus gut gemischten größeren Durchschnittsproben; eine jede Infektion von Parzelle zu Parzelle auszuschließen, war bei der gegenseitigen nahen Lage der Parzellen ganz unmöglich, ist in der Praxis überhaupt unmöglich, und was speziell Azoto-

bakter anbelangt, auch vollständig überflüssig, da er in allen Böden mehr oder weniger reichlich vorkommt. Obendrein kommt es ja auch gar nicht darauf an, ob bei der in 1 g Erde enthaltenen großen Anzahl von Keimen der verschiedensten Art aus der Luft noch einige zufliegen oder von benachbarten Ackerstücken durch Wind und Staubbewegung noch eine kleinere oder selbst größere Anzahl hinzukommt.

Alsdann konnte auch selbst noch 1 Woche nach der ersten Behandlnng der Parzellen mit der gewöhnlichen Ld nirgends eine nennenswerte Azotobaktervegetation in der betreffenden Nährlösung konstatiert werden; erst später, und vor allem mit Eintritt wärmerer Witterung, wurde recht üppiges Wachstum erzielt, jedoch nicht mit Impferde (1 g pro 100 ccm), von allen Parzellen, sondern nur mit solcher von Parzelle No. II und VIII, III und IX, V und X. Während des ganzen Sommers und Spätsommers (bei im ganzen 3mal durchgeführter Behandlung) war der Befund in Bezug auf die Azotobaktervegetationen derselbe, bis schließlich im Herbst mit Eintritt kälterer, nasser Witterung auch bei Verwendung von Impferde von den Parzellen II, VIII, III, IX, V, X (1 g pro 100 ccm) keinerlei augenscheinliche Entwickelung von Azotobakter beobachtet werden konnte; indessen konnten unter Verwendung eines anderen Nährbodens, aber derselben Menge Boden (s. oben; außerdem bei Verwendung von 1 g Erde pro 100 ccm Salzlösung mit Pektinstoffen) mit Impferde von allen Parzellen sehr wohl Azotobaktervegetationen erzielt werden. Obendrein ergab schließlich eine direkte mikroskopische Prüfung (s. später) in der Erde aller Parzellen reichliches Vorhandensein von Azotobakterorganismen, wenn auch teilweise recht beträchtliche Unterschiede in den Zahlen selbst zu beobachten waren, so weit sich dies auf Grund einer lediglich allgemein orientierenden Charakter tragenden vergleichenden Untersuchung beurteilen ließ. Eine direkte genaue Zählung (und zwar analog der Zahlenmäßigen Feststellung der Hefeorganismen in Gärflüssigkeiten) wurde bisher noch nicht vorgenommen.

Aus den vorliegenden, wenn auch nur wenigen Beobachtungen, geht schon zweifellos wohl das eine hervor, daß es lediglich auf dem gerade angewandten Nährboden oder vielmehr gerade an der durch kleinere oder größere Bodenmengen hervorgerufenen Modifizierung desselben liegt, wenn man in dem einem Falle mit kleineren Mengen, zuweilen auch selbst mit größeren eine Azotobaktervegetation nicht erzielt, wohl aber im anderen Falle. Daß z. B. 10 g Erde gegenüber einer Menge von 1 g bezw. gar 0,1 g einen Nährboden ganz gewaltig verändern können, scheint übrigens Löhnis vollständig zu übersehen oder wenigstens viel zu wenig zu würdigen; ganz ähnliche Verhältnisse liegen alsdann vor, wenn man dieselbe Bodenmenge, etwa 10 oder 20 g, und zwar von einem ursprünglich vollständig gleichartigen Ackerboden verwendet, welcher indessen eine ziemlich verschiedenartige Behandlung erfahren hat: selbstverständlich wird in solchen Fällen unter anderem auch die chemische Zusammensetzung der einzelnen Teilstücke oftmals erheblich differieren und größere Bodenmengen als Impferde für Azotobakterkulturen je nachdem einen förderlichen oder auch hindernden Einfluß auf die Entwickelung von Azotobakter ausüben müssen. Selbst bei Anwendung von geringen Bodenmengen (0,1 g, 0,01 g, 0,001 g oder noch weniger) bleibt also nach den bisherigen Beobachtungen und Untersuchungen des Verf. eine Entwickelung von Azotobakter, wie Löhnis und vielleicht auch andere Autoren anzunehmen geneigt scheinen, keineswegs aus dem Grunde aus, weil in diesen Mengen Erde eine ungenügende Anzahl oder vielmehr gar

keine entwickelungsfähigen Azotobakterorganismen vorhanden sind, sondern einzig und allein deshalb, weil diese Organismen noch nicht die Bedingungen zu ihrer gedeihlichen Entwickelung vorfinden. Dies kann man, wenn auch noch nicht im allgemeinen, so doch in diesen Fällen, immer direkt dadurch beweisen, daß man derartigen, nicht angegangenen Kulturen Impfmaterial entnimmt und in andere geeignetere Nährmedien bringt: Der Erfolg wird dann meist nicht ausbleiben. So weit Verf. die Azotobakterfrage bisher zu beurteilen vermag, finden sich im allgemeinen in allen Böden, und zwar schon in relativ kleinen Mengen Erde die hier in Betracht kommenden wichtigen Organismen recht zahlreich vor.

Das Studium ihrer Entwickelungsbedingungen ist allerdings noch nicht sehr weit über das Anfangsstadium hinaus; weshalb es unbedingt notwendig ist, vor allem in dieser Hinsicht weit umfangreichere Untersuchungen anzustellen und Erfahrungen zu sammeln, auf Grund derer man Azotobakter unter möglichst verschiedenartigen Verhältnissen zur gedeihlichen Entwickelung bringen kann.

Daß übrigens beispielsweise in 1 g Erde, welche nach Löhnis der Ackerkrume eines in hoher Kultur stehenden Feldes aus 10 cm Tiefe, allerdings im Monat Januar, entnommen war (s. p. 459), nur 20 N-sammelnde Azotobakterorganismen oder wenigstens keine erheblich größere Zahl vorhanden sein sollen, hält wohl Löhnis selbst für wenig wahrscheinlich; nach anderweitigen vorläufigen Beobachtungen des Verf. wird man jedoch den tatsächlichen Verhältnissen einigermaßen näher kommen, wenn man die von Löhnis angegebene Zahl der Azotobakterorganismen für 1 g Erde mit 10000 oder vielleicht gar besser mit 100000 multipliziert.

Bezüglich der Entwickelung der Azotobakterorganismen mag nunmehr noch besonders hervorgehoben werden, daß nach den neueren, wenn auch noch nicht sehr umfangreichen Beobachtungen des Verf. für die Kultur derselben vielleicht ziemlich allgemein und vorteilhaft Pektinstofflösungen verwandt werden können, denen man ein Gemenge von Kaliumphosphaten (K_3PO_4, K_2HPO_4, KH_2PO_4) oder auch K_2HPO_4 oder K_3PO_4 allein zugesetzt und diese Kulturflüssigkeiten mit verschieden großen Mengen Erde impft (100 ccm 10 g, 0,1 g, 0,01 g, 0,001 g Erde); man scheint hiermit fast ganz allgemein und regelmäßig Azotobaktervegetationen zu erzielen, wenn auch besonders bemerkt werden muß, daß man mit reichlichen Mengen Impferde im allgemeinen weit bessere Vegetationen, zuweilen mit auffallend starker Kahmhautbildung erhalten wird; übrigens erhält man auch schon Vegetationen von Azotobakter, freilich auffallend weniger gute, wenn man Pektinkulturen ohne Phosphorsäurenahrung anlegt und nicht allzuwenig Impferde verwendet.

Ueber den unter Umständen ganz besonders förderlichen Einfluß der Phosphorsäure auf die Entwickelung von Azotobakter gibt schließlich auch die folgende kleine Tabelle in ganz lehrreicher Weise ohne weiteres etwas nähere Auskunft. Diese tabellarisch zusammengestellte Versuchsreihe war allerdings zunächst aus ganz anderen Gründen angesetzt worden und zwar wollte man sich wenigstens einigermaßen über die etwaige verschiedene Säuerungskraft der oben erwähnten verschiedenartig behandelten Böden orientieren bezw. zunächst überhaupt irgend einen Anhaltspunkt darüber gewinnen. Als Nährlösung wurde durchweg eine bloße wässerige 1-proz. Dextroselösung (aq. dest.) verwandt, und zwar 200 ccm mit je 25 g gut gemischter

Erde der verschieden behandelten Parzellen geimpft; an phosphorsauren Salzen wurde 0,1 Proz. KH_2PO_4, K_2HPO_4, K_3PO_4 und zwar einzeln und alle drei in Mischung gegeben.

Ein Blick auf die hier beigegebene Tabelle gibt uns nun gleichzeitig neben der Azotobakterentwickelung auch ohne weiteres etwas Aufschluß auf die zum Teil wenigstens immerhin erheblich differierende Säurebildung.

Erde von der Parzelle No. ?		1. ohne Salz A: Z:	2. + 0,1 % KH_2PO_4 A: Z:	3. + 0,1 % K_2HPO_4 A: Z:	4. + 0,1 % K_3PO_4 A: Z:	5. + 0,1 % $K_1K_2K_3$ Salz A: Z:
[1]) No. I behandelt	A u. Z	A: 0 Z: +	A: 0 Z: +	A: 0 Z: + ?	A: ++ Z: 0	A: ++ Z: 0
	S	S: 10,4 ccm	S: 21,6 ccm	S: 19,4 ccm [1])	S: 19,0 ccm	S: 6,8 ccm
No. II behandelt	A u. Z	A: 0 +	0 + ?	++ 0	++ 0	++ 0
	S	S: 13,2 ccm	S: 20,8 ccm	S: 15,2 ccm	S: 11,2 ccm	S: 10,4 ccm
No. III behandelt	A u. Z	A: 0 +	+ + ?	++ 0	++ 0	++ 0
	S	S: 12,0 ccm	S: 22,4 ccm	S: 9,2 ccm	S: 14,8 ccm	S: 14,8 ccm
No. IV behandelt	A u. Z	A: 0 +	++ 0	++ 0	++ 0	++ 0
	S	S: 15,2 ccm	S: 16,4 ccm	S: 13,6 ccm	S: 4,4 ccm	S: 6,0 ccm
No. V behandelt	A u. Z	A: 0 +	+ + ?	++ 0	++ 0	++ 0
	S	S: 12,0 ccm	S: 22,0 ccm	S: 8,8 ccm	S: 16,0 ccm	S: 13,6 ccm
No. XI vollständig unbehandelt	A u. Z	A: 0 +	0 +	++ 0	++ 0	++ 0
	S	S: 14,0 ccm	S: 24,0 ccm	S: 9,2 ccm	S: 7,6 ccm	S: 19,2 ccm

Bemerkungen. A u. Z: bedeuten Azotobaktervegetation und Zuckerreaktion; S bedeutet Säuregehalt pro 100 ccm ≅ x ccm $Ba(OH)_2$; Titer: 1 ccm $Ba(OH)_2$ ≅ 0,0023 g N; A ++ bedeutet Hautbildung; A + Nesterbildung; 0 keine Reaktion bezw. Vegetation; + Reaktion bezw. Vegetation vorhanden; + ? Reaktion unbestimmt, Vegetationszeit 28./10. bis 15./11. 1904.

Erde No. I behandelt, No. II behandelt, No. III, No. IV, No. V behandelt stellen Erden vor, die ursprünglich mit No. XI als so gut wie gleichartig anzusehen sind, alsdann aber eine verschiedenartige Behandlung erfahren haben. 0,1 % $K_1K_2K_3$-Salz bedeutet: pro 100 ccm 0,1 g eines Gemenges von gleichen Teilen ein-, zwei- und dreibasischem, phosphorsaurem Kalium.

NB. Was übrigens die tatsächlich vorhandene, durch Titration festgestellte Gesamtsäuremenge anbelangt, so wird dieselbe selbst dann nur in ganz geringem Grade von den sauren Phosphorsalzen beeinflußt, wenn sogar die weitaus größten Mengen noch unverarbeitet in den Kulturflüssigkeiten sich vorfinden sollten.

1) Anmerkung. Sehr auffallend ist der Befund bezüglich der Vegetation von Azotobakter, daß dieselbe bei Verwendung von Boden No. I ausbleibt, wenn das sonst überall förderlich wirkende zweibasische phosphorsaure Kalium gegeben wurde. Er wird jedoch einigermaßen dadurch erklärt, daß Boden No. I eine durch CS_2-Behandlung in chemischer Hinsicht stark veränderte Bracherde vorstellt.

Daß dieser Befund nicht etwa ganz zufälligerweise eine Ausnahme bildet, geht aus einer Reihe von gleichartig hergerichteten Parallelkulturen (6) mit Boden No. I und

Zur Erklärung mag jedoch einiges noch hinzugefügt werden. Zunächst weist der Säuregehalt[1]) (vorwiegende Mengen Buttersäure, allem Anscheine nach unter anderem aber auch schwankende Mengen von Milchsäure und Essigsäure) der Kulturen ohne Phosphorsäuregabe bei den einzelnen verschiedenartig behandelten Böden auffallende Schwankungen auf; diese sind alsdann noch auffallender, wenn man die ohne Phosphorsäuregabe verbliebenen mit den Phosphorsäurekulturen, und die Kulturen mit verschiedenen Phosphorsäuresalzen wiederum gegenseitig vergleicht; indessen scheint sich der Einfluß eines bestimmten Phosphorsäuresalzes auf die Säuerungskraft der einzelnen Erden im allgemeinen wenigstens ziemlich gleichmäßig bemerkbar zu machen. Ein bestimmteres Urteil läßt sich natürlich erst gewinnen, wenn ausgedehntere Untersuchungen vorliegen; Erde No. III und No. V sind sehr ähnliche Erden, liefern auch leidlich gut übereinstimmende Säurezahlen; immerhin sind erst nachträglich eine ganze Reihe von Parallelversuchen[2]) mit gleichen und verschiedenen Bodenmengen ein und derselben Erde (No. IV, V und X) angesetzt worden, um so zu sehen, ob man im allgemeinen wenigstens einigermaßen übereinstimmende Säurezahlen auf diese Weise gewinnen und diese Methode also überhaupt anwenden kann. Auf alle Fälle wirken die phosphorsauren Salze samt und sonders günstig auf Eintritt und Verlauf der Säuregärung, nicht durchweg güustig (s. besonders einzelne K_3PO_4- und $K_1K_2K_3$-Salzkulturen), teilweise direkt ungünstig während der eingehaltenen Kulturzeit auf die Intensität der Gärung (die gebildete Gesamtsäuremenge) ein. Dabei muß allerdings berücksichtigt werden, daß bei diesen Versuchen noch nicht äquivalente Phosphorsäuremengen, sondern nur gleiche Salzmengen verwandt wurden. Bei Anwendung äquivalenter Phosphorsäuremengen, ebenso bei Zugabe verschieden großer Mengen ein und desselben Salzes werden sich möglicherweise noch weitere Unterschiede in Bezug auf Säurebildung bemerkbar machen. Weiterhin sollen auch CO_2-Bestimmungen vorgenommen werden, die vielleicht ebenfalls ganz interessante Aufschlüsse geben werden. Da die zu titrierenden Flüssigkeiten nicht erst erwärmt wurden, so ist in dem angegebenen Gesamtsäuregehalte selbstredend ein geringer Teil CO_2 noch mit eingeschlossen, andererseits ist aber auch ein Teil der organischen Säuren während der angegebenen Kulturzeit an Kalk gebunden;

---

zum Vergleiche auch in derselben Weise aus Kulturen eines anders behandelten Bodens (No. V) hervor; während nämlich in allen Kulturen mit Boden No. V (25 g Erde pro 200 ccm) üppigste Azotobaktervegetation eintrat, wurde in sämtlichen Kulturen mit Boden No. I keine nennenswerte Entwickelung, auf alle Fälle keinerlei Kahmhautbildung wahrgenommen. Und dies also trotz Zugabe von K_2HPO_4.

In den entsprechenden phosphorsäure-freien Kulturen wurde übrigens den früheren Beobachtungen entsprechend, bei keiner einzigen eine Azotobaktervegetation bemerkt. Bei Verwendung verschieden großer Erdmengen (1 g, 4 g, $7^1/_2$ g, 15 g, 50 g, 100 g, 200 g pro 200 ccm) wurde nur in den phosphorsäurehaltigen Kulturen bei einer Erdmenge von $7^1/_2$ g ab A-Vegetation als Kahmhaut beobachtet (K_3PO_4).

1) Anmerkung: Bezüglich des tatsächlichen Säuregehaltes mag erwähnt werden, daß pro 100 ccm Kulturflüssigkeit ca. 0,125 g Milchsäure bezw. auch annähernd ebensoviel Buttersäure (d. h. die Gesamtsäure hierauf berechnet) vorhanden sind, wenn die betreffende Säurezahl 8,8 ccm $Ba(OH)_2$ mit dem obigen Titer entspricht.

2) Anmerkung: Dieselben haben inzwischen ergeben, daß bei Kulturen bei Verwendung verschieden großer Erdmengen (an und für sich aber durchweg relativ großer Mengen) immerhin nennenswerte Schwankungen des Säuregehaltes auftreten; bei Verwendung gleicher Erdmengen wurden keine nennenswerten Unterschiede beobachtet. Wie alsdann die Verhältnisse bei gleich großen, aber relativ minimalen Erdmengen liegen (möglicherweise recht abweichend), muß erst durch besondere Versuche noch festgestellt werden.

eventuell ist alsdann nach der 18-tägigen Kulturzeit auch schon ein Säurerückgang durch Organismenwirkung eingetreten. Im übrigen bildeten sämtliche Kulturen, wenn auch verschieden intensiv und nach verschieden langer Zeit (am spätesten die Kulturen ohne Phosphorsäure), so doch durchgehends reichlich Schaum, der sich mehr oder weniger massenhaft an den Flüssigkeitsoberflächen ansammelte. Bei allen Kulturen mit $K_1K_2K_3$-Salz, mit K_3PO_4 und K_2HPO_4 (ausgenommen No. I, 3) bildeten sich immer schon nach 5—10 Tagen fast durchweg vollständig geschlossene Decken — Azotobakterkahmhäute —, die in Farbe und Dicke allerdings vielfach differierten; am frühesten erfolgte die Deckenbildung bei Boden No. IV, K_3PO_4- und $K_1K_2K_3$-Kultur. Alle Kulturen ohne Phosphorsäure weisen keine Azotobaktervegetation auf, ebensowenig sämtliche Kulturen mit KH_2PO_4 mit Ausnahme der Kultur mit Impferde No. IV, welche auffallenderweise sogar ganz üppige Deckenbildung zeigte; sehr auffallend ist dann vor allem der Befund bei Erde I mit K_2HPO_4, welche keinerlei nennenswerte Vegetation aufwies, nicht einmal sogenannte Azotobakternesterbildungen, wie sie sich bei einigen KH_2PO_4-Kulturen (Erde No. III u. V) auf dem gebildeten Schaume bemerkbar machten. Mikroskopisch konnten natürlich neben anderen Organismen (Pilzen, Granulobakter, Clostridien, Plektridien etc.) in allen Kulturen, in denen keine nennenswerte augenscheinliche Vegetation von Azotobakter zu bemerken war, immerhin ziemlich zahlreiche Individuen von Azotobakter (besonders auffallend in $K_1H_2PO_4$-Kultur von No. II und K_2HPO_4-Kultur von No. I beobachtet werden. Zu bemerken wäre auch noch, daß in allen Kulturen mit guter A-Vegetation Zucker nicht mehr nachweisbar war, in den Kulturen mit braunschwarzen Azotobakternestern[1]) und immerhin auffallend reichlicher Individuenzahl noch Spuren (allerdings nur mit Fehlingscher Lösung geprüft), in allen anderen indessen noch recht auffallende Mengen vorgefunden wurden. Wie oben schon erwähnt wurde, konnte mit denselben Impferden, welche in phosphorsäurefreien Kulturen, d. h. in Kulturen, die ohne Zusatz von Phosphaten geblieben waren, keine Azotobaktervegetationen lieferten, in ebensolchen Kulturen sehr wohl eine leidlich gute Vegetation von Azotobakter erzielt werden, wenn an Stelle von Traubenzucker Pektinstoffe als C-Nahrung gegeben wurden. Bei Zusatz von Phosphaten erfolgte eine auffallend bessere Entwickelung. Auch mag hier in Kürze erwähnt

1) Anmerkung. In einer Art Nesterform scheint übrigens Azotobakter zuweilen auch im Ackerboden vorzukommen: Wenigstens konnte Verf. hauptsächlich bei einigen der schon mehrfach erwähnten kleinen Parzellen eines Ackerstückes, welche eine verschiedenartige Behandlung erfahren hatten, beim Zerdrücken und Verreiben der mit dem Erdbohrer erhaltenen cylinderartigen Stücke vielfach Stellen beobachten, die sich rein äußerlich als unregelmäßige, stecknadelkopfgroße bis erbsengroße eingelagerte Kalkmassen darboten. Diese Stellen waren obendrein stark gelblich, zuweilen direkt braungelb verfärbt und hatten auffallend stark den bekannten schimmeligen Erdgeruch von frisch gepflügten Aeckern. Bei der näheren Untersuchung stellte sich auch heraus, daß diese Massen wesentlich aus kohlensaurem Kalk bestanden, welcher aber sehr stark mit Pilzen und Azotobakterorganismen durchsetzt war. Wenn man diesen Stücken eine geringe Menge Material entnahm und auf sogenannte N-freie gewöhnliche Agarnährböden ausstrich, so konnte man meistens eine tadellose, üppig entwickelte Rohkultur von Azotobakter unter starker Verschleimung derselben gewinnen. Wenn man hingegen als Impfmaterial Erde verwandte, welche in der Nähe dieser nesterartigen Kalkmassen entnommen worden war, so konnte man niemals eine derartige Rohkultur von Azotobakter erhalten. Möglicherweise spielen allerdings u. a. hierbei auch die begleitenden Organismen eine nicht unwichtige Rolle. Auf alle Fälle dürfte auch diese Beobachtung der weiteren Verfolgung wert sein.

werden, daß in sämtlichen Kulturen mit Erde I, II, III, IV, V und XI sowohl ohne Phosphorsäurezugabe, als auch mit dieser keinerlei nennenswerte Azotobaktervegetation erhalten wurde, wenn man 200 ccm Kulturflüssigkeit mit 25 g Erde (s. oben) schüttelte, absetzen ließ und 20 ccm (abpipettiert) als Kultur wochenlang stehen ließ.

Dieselben Resultate wie oben (s. Tabelle) wurden bezüglich der A-Vegetation erhalten, wenn Kulturen mit bestelltem Boden (Getreide) — Erde I, II, III, IV, V und XI im November entnommen — ohne und mit K_3PO_4 angelegt werden; eine schwache Azotobaktervegetation konnte allerdings auch in Kultur mit Erde II ohne K_3PO_4 beobachtet werden.

In Dextrosekulturen (200 ccm, 25 g Erde) konnten weiterhin nur in den Phosphorsäurekulturen (K_2HPO_4) bis zu einem Gehalte von 0,25 Proz. Salz A-Vegetationen als Kahmhäute beobachtet werden, wenigstens nicht mehr in Kulturen mit 0,5 Proz. K_2HPO_4. Bei Zusatz von N-Verbindungen (10 mg, 50 mg $NaNO_3$; 10 mg, 50 mg $(NH_4)_2SO_4$; 25 mg Pepton, 25 mg Harnstoff, Glycocoll, Guanidin, Harnsäure, 25 mg Asparagin, 25 mg Asparaginsäure, 25 mg Calciumcyanamid wurden bisher in sämtlichen Rohkulturen, selbst in phosphorsäurehaltigen, (K_2HPO_4 0,1 Proz.) keine normale A-Vegetation[1]) (Hautbildung) erhalten, wohl aber Unterschiede in der Säurebildung. Eine gewisse Ausnahme bildet hier allerdings die Kultur mit K_2HPO_4 und 10 mg Salpeter (Erde No. X); diese zeigt keine normale Kahmhautbildung nach wenigen Tagen, sondern nach längerer Zeit erst ziemlich dicht verfilzte Pilzdecke mit auffallend starken, verschleimten und ausgedehnten Azotobakternestern. Reinkulturen werden in ähnlicher Weise erst geprüft.

Eine Notiz über alte Reinkulturen von Azotobakter und den Wert sogenannter Passagekulturen.

Viele Forscher, welche sich bisher etwas näher mit der Azotobakterfrage beschäftigten, haben wohl schon öfters, wenn nicht gar regelmäßig die Beobachtung gemacht, daß diese wichtigen Organismen-

1) Anmerkung: Uebrigens konnte man nach einer etwas längeren Kulturzeit eine von der bekannten normalen Azotobaktervegetation allerdings ziemlich stark abweichende und nicht sonderlich gute Vegetation auch in den phosphorsäurehaltigen Kulturen mit 25 mg Calciumcyanamid- und mit 25 g Asparaginsäure-Zusatz erhalten (cf. hierzu auch die Salpeterkulturen). Näheres darüber später, wie auch im allgemeinen und besonderen über die verschiedenen N-Kulturen von Azotobakter als Rohkulturen und Reinkulturen, da ja bekanntlich gerade das eingehendste Studium der einzelnen wichtigen Organismenarten, — ihres Lebens im Boden und auf Kosten der im Boden vorhandenen Nährstoffe, — als zunächst wichtigste Aufgabe der jungen bodenmykologischen Forschung angesehen werden muß. Ganz vorteilhaft können natürlich neben diesen Untersuchungen auch bereits solche in Gang gesetzt werden, welche den natürlichen Verhältnissen im Boden möglichst angepaßt sind, insbesondere auch direkte Freilandversuche; solche können aber naturgemäß gegenwärtig noch größeren Wert beanspruchen, als daß wir sie als bloße Tastversuche ansehen, durch welche wir uns also vorläufig über einzelne Organismenwirkungen im Boden etwas näher zu unterrichten suchen. — Weiterhin sind auch bereits Versuche im Gange, welche eine besondere Prüfung der Frage bezwecken, in welcher Weise die in der praktischen Landwirtschaft zur Verwendung gelangenden verschiedenartigen Phosphorsäuredünger die Entwickelung von Azotobakter beeinflussen. —

Kulturen trotz gutem Wachstums, ja bei einer oftmals geradezu üppigen Entwickelung derselben, wenigstens auf dem einen oder anderen ihnen besonders gut zusagenden Nährboden, ganz plötzlich versagen, d. h. also, sich entweder nur recht kümmerlich entwickeln oder aber daß eine augenscheinliche Entwickelung sogar überhaupt nicht mehr eingetreten ist, selbst wenn man sehr reichliche Mengen Impfmaterial und bei der Tochterkultur ganz denselben Nährboden wie bei der Mutterkultur verwandte. Diese Erscheinung tritt im allgemeinen schon oft bei nur wenige Monate alten Kulturen, zuweilen sogar schon bei solchen auf, die kaum einen Monat alt sind. Vielfach pflegt sie allerdings gerade dann aufzutreten (— und das alsdann zu einer gewissen Beruhigung für den betreffenden Versuchsansteller —), wenn man genötigt ist, einen neuen, aber keineswegs auffallend anders zusammengesetzten Nährboden zu verwenden, sondern vielmehr ganz den gleichen wie zuvor, wenigstens sehr sorgfältig nach derselben Vorschrift hergerichteten. Wie man sich jederzeit durch den Versuch überzeugen kann, sind jedoch derartige alte feste, wie auch flüssige Azotobakterkulturen im allgemeinen keineswegs schon abgestorben, sondern nur in einem Zustande, bei welchem eine Entwickelung und zwar gerade auf demselben Nährboden nicht mehr erfolgt. Neben dem Alter der Kulturen und weiterhin auch neben dem überaus reichen Luftzutritte bezw. O-Zutritte bei festen Kulturen, weniger allerdings bei flüssigen, stellt nun für diese Erscheinung, also für das Ausbleiben der Weiterentwickelung der neu angelegten Kulturen auf gewissen, N-freien bezw. N-armen, unter Umständen auch auf oder in N-reicheren und zwar auf denselben Nährböden, gerade der Umstand die Hauptursache vor, daß man nämlich bei den Tochterkulturen im allgemeinen genau denselben Nährboden wie bei den Mutterkulturen zu nehmen pflegt. Die Azotobakterorganismen sind zumal bei etwas älteren Kulturen meist physiologisch und auch morphologisch bereits recht stark verändert, so daß eine Weiterentwickelung auf denselben Substraten nicht mehr erfolgt, naturgemäß auch wenig oder gar nicht zu erwarten ist. In solchen Fällen kann nun der Wert von sogenannten Passagekulturen nicht hoch genug gewürdigt werden: Man kann nämlich mit demselben alten, nur scheinbar sich nicht mehr entwickelnden Impfmateriale und selbst mit solchem Materiale, welches den nicht aufgegangenen Tochterkulturen entnommen wird, auf anders zusammengesetzten Nährböden, insbesondere auch unter Verwendung von Zusätzen von Erde, Kalk, Gips u. s. w., oftmals eine Entwickelung von Azotobakter in einer Ueppigkeit erzielen, wie man sie vordem kaum jemals hat beobachten können. Für derartige alte Azotobakterkulturen auf N-freien, N-armen Nährböden sind beispielsweise unter anderem besonders auch schwach alkalische, selbst saure Würzegelatine-Fleischwasserpeptongelatine- und Agarnährböden mit $CaCO_3$-Zusatz etc. sehr geeignet; in ähnlicher Weise wird man bei flüssigen Kulturen vielfach schon mit einem bloßen Zusatze von $CaCO_3$, in anderen Fällen unter Fortlassen desselben günstige Ergebnisse erhalten. Unter Verwendung derartiger Passagekulturen hat Verf. seine ältesten schon über 2 Jahre alten auf den verschiedenartigsten Nährböden gezüchteten Azotobakterkulturen, die obendrein schon vollständig ausgetrocknet waren, wieder zur freudigsten Entwickelung auf denselben Nährböden bringen können, auf denen sie vordem gediehen waren. Bringt man also beispielsweise Impfmaterial von einer ganz alten, vollständig ausgetrockneten sogenannten N-freien Azotobakterkultur (das erst, unter den nötigen Vorsichtsmaß-

regeln natürlich, mit Mühe abgekratzt werden muß und in Pulverform übertragen wird), auf einen gewöhnlichen sauren Würzeagar (1 Teil Würze 3 Teile Wasser; oder auch unverdünnte Würze) mit $CaCO_3$-Zusatz, so erhält man meist eine sehr üppig entwickelte, oftmals schon nach wenigen Tagen olivgrün bis tief braunschwarz verfärbte Kultur; impft man von derartigen Kulturen wieder rückwärts auf den ursprünglich zu Kulturzwecken verwandten sogenannten N-freien Agar, so erhält man auch dort im allgemeinen wieder eine ausgezeichnete Entwickelung, vorausgesetzt, daß man auch hier den Zustand des Impfmateriales berücksichtigt und nicht allzu alte Kulturen verwendet. Uebrigens kann man auf demselben Würzeagar mit $CaCO_3$ (ohne große Rücksicht auf die Menge desselben nehmen zu müssen) sonderbarerweise fast beliebig viel ältere Kulturen als oben angegeben sich von neuem freudig entwickeln sehen. Schließlich mag auch an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, daß man unter Verwendung der $CaCO_3$-Passagekulturen Azotobakter, wenn auch nicht gerade sehr freudig, sogar auf sauren Nährböden, wie beispielsweise saurem Würzeagar, und selbst auf saurer Würzegelatine zu einer ganz guten Entwickelung bringen kann. Es entwickelt sich also ein und dasselbe Azotobaktermaterial von einer sogenannten N-freien Kultur beispielsweise nicht direkt auf saurer Würzegelatine oder saurem Agar, wohl aber, wenn man Azotobakter erst auf dem entsprechenden gekalkten Nährboden sich entwickeln läßt, und mit derartigem Materiale alsdann Kulturen ohne Kalk anlegt. Da Azotobakter auf Grund neuerer Beobachtungen selbst zu den säurebildenden Organismen, wie Verf. bereits früher auseinandersetzte, gehört, so hat sein Wachstum auf sauren Nährböden schließlich auch nichts auffallendes mehr. Entwickelt er sich doch auch als Rohkultur in selbst relativ stark sauren Kulturflüssigkeiten (organische Säuren; s. obige Tabelle) ganz ausgezeichnet. Allerdings weiß man in derartigen Rohkulturen noch nicht viel über die etwaige, sein Wachstum unterstützende Wirkung der verschiedenen Begleitorganismen, (Pilze, Algen und Bakterien), insbesondere vielleicht auch gerade der als solche in Betracht kommenden und als Humusbewohner und Humusvergärer zu bewertenden wichtigen Streptothrix-Pilze (u. a. der bekannten Streptothrix odorifera), welche nach vorläufigen Beobachtungen des Verf. gerade in flüssigen Bodenkulturen mit geeigneten N-Düngern sich recht gut zu entwickeln pflegen. Im übrigen wird man wahrscheinlich auch ohne sogenannte Passagekulturen alte, nur scheinbar nicht mehr entwickelungsfähige Azotobakterkulturen auf demselben Nährböden zur Weiterentwickelung bringen können, wenn man also gleichzeitig geeignete begleitende Organismen mit überimpft. Nähere direkte Untersuchungen und Beobachtungen liegen allerdings noch nicht vor. Zu bemerken wäre jedoch, daß bei Rohkulturen von Azotobakter neben anfangs meist weniger üppigen Vegetationen von Pilzen in geeigneten sogenannten N-freien Nährmedien nach einer gewissen Zeit vielfach auch reichliche Cyanophyceenvegetationen (Nostocaceen) und Chlorophyceenvegetationen (Protococcaceen, Chlorellaarten) sich zu entwickeln pflegen, so daß also Azotobakter auch im Ackerboden vielfach gemeinschaftlich mit niederen blaugrünen und grünen Algen vorkommen dürfte. Schließlich kann man bei festen, älteren Reinkulturen von Azotobakter regelmäßig auch die Beobachtung machen (zumal wenn dieselben schon häufiger weitergeimpft wurden), daß sich derartige ältere Organismen, in sogenannte N-freie

Nährlösung gebracht, im allgemeinen nur recht kümmerlich entwickeln. Durch spezielle Bodenpassagekulturen (flüssige Kulturen) mit geeigneten N-Verbindungen kann man jedoch diese Organismen ganz bequem gewissermaßen neu beleben, sie also beim Ueberimpfen in sogenannte N-freie Nährlösungen in diesen wiederum zu üppiger Entwickelung und damit zu einer reichlichen N-Sammlung veranlassen (Näheres später).

Einiges über den direkten Nachweis der sogenannten Azotobakterorganismen im Ackerboden, sowie einige Schlußbemerkungen.

Nach den neuesten Beobachtungen des Verf. scheinen die in den vorstehenden Ausführungen unter anderem besprochenen überaus wichtigen N-sammelnden sogenannten Azotobakterorganismen[1]) auch im Boden in einem solchen physiologischen Zustande vorzukommen, daß man im allgemeinen immer reichliche Mengen Glykogen in denselben wird beobachten und nachweisen können. Man kann die Organismen in Bodenaufschwemmungen zwar schon ganz gut direkt, ohne Zuhilfenahme einer Färbmethode, mikroskopisch erkennen und als solche nachweisen und auch eventuell schon eine Zählung anstreben; aber besser ist es zweifellos, wenn man gleichzeitig eine Färbung der Organismen mit einer genügend starken Jodjodkaliumlösung vornimmt, um eine deutliche, unverkennbare Braunrotfärbung des aufgespeicherten Glykogens zu erzielen. Nach der Ansicht des Verf. kann man nun eine direkte Zählung von Azotobakterorganismen, d. h. derjenigen Entwickelungsformen derselben, welche nach unseren bisherigen Kenntnissen als spezielle N-assimilierende Gebilde anzusehen sind und mit Jodlösung eine tiefbraunrote Färbung geben — nämlich eine direkte Zählung der sogenannten Bakteroïden, wie sie zunächst noch genannt sein mögen — ganz bequem in einer Weise vornehmen, welche der Hefezählung in gärenden Würzen und Maischen völlig analog ist. Schließlich kann man auch ihre etwaige stark abweichende Vermehrungsenergie in verschiedenartigen Böden dadurch wenigstens einer annähernden Bestimmung unterwerfen, daß man gleiche Bodenmengen als Impfmaterial für besonders geeignete Nährböden verwendet; natürlich müßte in diesem Falle eine direkte Zählung der Organismen in der Impferde vorangehen und eventuell nur so viel Boden zum Impfen verwendet werden, daß in alle zu vergleichenden Kulturen möglichst die gleiche Anzahl wirksamer Organismen übertragen wird. Um die allzugroße Beeinflussung des an und für sich ganz gleichartig gewählten Nährbodens durch die verschieden großen Mengen Impferde zu vermeiden und die möglichen Fehler durch Ausgleich einigermaßen belanglos zu gestalten, würde man zu derartigen Zählungen dann wohl zunächst am besten zu möglichst großen Impferdemengen greifen, in sämtliche Kulturen aber dann obendrein noch eine größere Menge sterilisierter Erde hinzufügen müssen, und

1) Anmerkung: Wie Verf. übrigens schon früher (cf. diese Zeitschr. Bd. XII. 1904. p. 57) u. a. auch das Vorhandensein von Azotobakter im Waldboden, (— und zwar zunächst in jungem Eichenbestande, späterhin aber auch in älteren Eichenbeständen, sowie in jungen und älteren Buchenbeständen —) indirekt durch sogenannte N-freie Kulturen nachweisen konnte, so dürften nach neueren diesbezüglichen Beobachtungen des Verf. gerade die wichtigen Azotobakterorganismen auch im Waldboden ganz allgemein verbreitet sein und sich auf Grund ihres Glykogengehaltes nunmehr auch ganz bequem direkt in den verschiedensten Waldböden nachweisen lassen. —

zwar derartig, daß in denselben trotz der verschieden großen Impferdemengen schließlich doch gleichgroße Mengen Erde vorhanden sind. — Bei dieser Vorsichtsmaßregel wird man sicherlich einigermaßen brauchbare, wenn auch nicht völlig einwandsfreie Ergebnisse erhalten.

Die direkte Zählung der Organismen selbst, im Boden oder in flüssigen Kulturen, wird man mit dem zu Hefezählungen gebräuchlichen Apparate in der bekannten Weise vornehmen können, wie man sie unter anderem beispielsweise auch in dem bekannten Buche Lindners[1]) über die mikroskopische Betriebskontrole in den Gärungsgewerben des näheren erörtert findet; allerdings müßte besonders bei der direkten Zählung der Azotobakterorganismen im Boden auf eine möglichst gleichmäßige Aufschwemmung der Erde und gute Verteilung der Organismen in Wasser oder in irgend einem sonstigen eventuell besser geeigneten Medium sehr viel Sorgfalt verwendet werden. Auch müßte es einer besonderen Prüfung vorbehalten bleiben, ob man eventuell besser tut, die Färbung der Organismen mit Jodlösung gleich anfangs vor einer eventuellen weiteren Verdünnung der in geeigneter Weise sorgfältig auszuschüttelnden Bodenaufschwemmung vorzunehmen oder erst nachher, wenn man die eigentliche Zählung der speziellen Organismen vornimmt.

Bei dieser Methode, die Azotobakterorganismen direkt zu zählen, ist allerdings wohl zu bedenken, daß man unter Umständen azotobakterähnliche Organismen mitzählen kann, welche gleichfalls die Glykogenreaktion geben und in Form und Größe nur unbedeutend von ihnen abweichen. Bei einiger Uebung wird man indessen gröbere Verwechselungen zu vermeiden wissen. Zweifellos wird man aber die Zahl der Azotobakterorganismen eines Bodens in der angegebenen direkten Weise besser bestimmen können, die tatsächlich vorhandene Zahl annäherungsweise also weit sicherer feststellen können, als mit Hilfe der sogenannten Verdünnungsmethode durch Anlegung von flüssigen Kulturen oder auch mit Hilfe der Plattenmethode[2]) durch direktes Auszählen der aufgegangenen Kolonieen. — Diese Azotobakter-Bakteroïden im Boden sind nun vorwiegend rundliche, coccaceenartige, zuweilen etwas eckige, lappig verzweigte, größere Gebilde von meist unzweideutiger Sporangiennatur, welche obendrein sehr an die sogenannten Gonidienformen von Flechten erinnern, so daß man beim weiteren Studium der sogenannten Azotobakterorganismen fast mit zwingender Notwendigkeit auf ein spezielles, eingehenderes Studium gewisser Flechten in biologischer, morphologischer und physiologischer Hinsicht hingewiesen wird, welche zunächst allerdings lediglich als begleitende Organismen und wichtige Humusbewohner nicht ohne eine gewisse Bedeutung für die Azotobaktervegetationen des Bodens sein dürften. Die sogenannten Azotobakterbakteroïden mit überaus starker Glykogenbildung finden sich

1) Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben, mit einer Einführung in die technische Biologie, Hefereinkultur und Infektionslehre. 3. Aufl. Berlin (Paul Parey) 1901. p. 137.

2) Anmerkung: Mit Hilfe der Plattenmethode werden sich übrigens in der Bakteriologie, besonders bei speziellen vergleichenden Keimzahlprüfungen in Böden, ganz zweifellos einigermaßen brauchbare Resultate im allgemeinen immer nur dann gewinnen lassen, wenn man gleichzeitig nebeneinander eine Reihe möglichst verschiedenartiger Nährböden verwenden kann. Auf alle Fälle aber kann natürlich derartigen allgemeinen Organismenzählungen im Boden bei dem gegenwärtigen Stande der Bodenmykologie leicht erklärlicherweise überhaupt nur ein sehr beschränkter Wert beigemessen werden. —

übrigens im Boden sehr viel vereinzelt vor, häufiger auch in der bekannten Semmelform zu zweien oder mehreren, relativ selten in einer Art Tetrasporen- oder Tetragonidienform oder in größeren kettenförmigen Verbänden oder in flächenartig vereinigten, bezw. auch in maulbeerförmigen Gruppen. Dieser Befund erstreckt sich nun allerdings in erster Linie auf Böden, die keinen übermäßig hohen Wassergehalt aufweisen, vielmehr ziemlich trocken und locker sind; ganz dieselben Formen, besonders auch maulbeerförmige Gruppen, finden sich in bestimmten künstlichen, älteren, festen Kulturen, die schon eine weitgehende Austrocknung erfahren haben; überhaupt scheint man nach Ansicht des Verf. auf die Austrocknung der Kulturen als vielleicht wichtigsten Faktor bezüglich des Studiums der Biologie der Azotobakterorganismen, wenn überhaupt, so doch bisher viel zu wenig Gewicht gelegt zu haben. Es muß allerdings die Biologie dieser Organismen zunächst in möglichst verschiedenartigen Böden, insbesondere auch in nassen, schmierenden Böden, sowie in trockenen Böden direkt nach einem ergiebigen Regen noch genauer verfolgt werden, bevor sich Verf. eingehender darüber äußern kann. Auf alle Fälle scheinen, wenigstens nach den bisherigen Beobachtungen (von lediglich orientierendem Charakter), gebrachte Böden[1]) immer eine weit größere Anzahl von Azotobakterorganismen[1]) zu bergen, als andere Böden; freilich läßt sich nun eine direkte Gesamtstickstoffzunahme mit Hilfe der gegenwärtigen Bestimmungsmethoden des Gesamt-N in Erden erklärlicherweise kaum nachweisen. Möglicherweise lassen sich aber immerhin brauchbare Zahlen gewinnen (bezüglich der Gesamt-N-Zunahme in gebrachten Böden), wenn man u. a. eine gleichzeitige Phosphorsäuredüngung berücksichtigt. Näherer Aufschluß über die Azotobakterorganismenzahl, sowie über die Gesamt-N-Zunahme in Böden kann selbstverständlich erst durch umfangreichere vergleichende Untersuchungen erhalten werden. Vielleicht wird aber weiterhin auch ein genaueres Studium der Flechtenbiologie wesentlich dazu beitragen, einen tieferen und mehr befriedigenden Einblick in die N-Assimilationsvorgänge durch Organismen zu gewinnen, und zwar speziell das Studium

---

1) Anmerkung: Inwieweit freilich neben anderen Organismen, wie beispielsweise neben den Streptothricheen, möglicherweise gerade die Azotobakterorganismen als sogenannte „Bracheerreger" eine gewisse Rolle spielen, d. h. also der Eintritt der Bodengare bei der Brache mit der Entwickelung dieser wichtigen Organismen in einem gewissen Zusammenhange steht, kann natürlich erst durch besondere, in geeigneter Weise angestellte Versuche klargelegt werden.

Es mag jedoch auch an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben bezw. nochmals besonders hervorgehoben werden, daß auch die sogenannten Azotobakterorganismen nach mannigfachen Beobachtungen des Verf. im Gegensatze zu den diesbezüglichen Beobachtungen und Mitteilungen von Hiltner und anderen Forschern auch auf geeigneten Gelatinenährböden, insbesondere auch auf solchen, welche mit Leguminosenextrakten hergerichtet werden, recht gut sich entwickeln (cf. hierzu die obigen Mitteilungen).

Allerdings wird bekanntlich die Bodengare unter anderem vielfach gerade mit sogenannten nichtgelatinewüchsigen Organismen in mehr oder minder enge Verbindung gebracht.

Durch ausgedehntere Versuche (unter anderen unter Verwendung von verschiedenen großen und genügenden Mengen von Desinfektionsmitteln) wird sich also schließlich unschwer feststellen lassen, ob wir die Bodengare bei der Brache u. s. w. überhaupt auf Organismenwirkungen zurückführen können, d. h. also, ob dieselbe ausschließlich oder nur teilweise auf derartigen Prozessen beruht, bezw. ob sie wenig oder nichts mit Organismenwirkungen zu tun hat.

von begleitenden Organismen, wie Pilzen und Algen, gerade in diejenigen Vorgänge, welche durch die bekannten sogenannten Azotobakterorganismen ausgelöst werden. Nach neueren Untersuchungen und Beobachtungen des Verf. kommt es übrigens zweifellos wenig oder gar nicht auf die Menge der tatsächlich vorhandenen N-Mengen eines Nährbodens an, sondern lediglich auf die N-Formen, wenn Azotobakter einigermaßen freudig gedeihen und auch unter Umständen infolgedessen nicht unwesentliche Mengen freien, ungebundenen N der Luft festlegen soll, abgesehen natürlich von anderen notwendigen Faktoren. Für den Verf. ist es weiterhin auch gar nicht mehr zweifelhaft, wie er des näheren schon früher auseinandersetzte, daß als Träger der N-Assimilationsvorgänge in erster Linie, wenn nicht gar ausschließlich, gerade die sogenannten Bakteroïdenformen in Betracht kommen und in rein chemischer Hinsicht zweifellos das reichlich aufgespeicherte Glykogen eine bedeutsame, wenn nicht überhaupt die wichtigste Rolle spielt. Beim Zerfall der sogenannten Bakteroïdenformen, über deren Ursache man freilich noch nichts Sicheres weiß, und man vorläufig also darüber nur Vermutungen hegen kann, spielen wahrscheinlich auch die N-Verbindungen, und zwar diejenigen in löslicher Form, vorwiegend also die Salpeterverbindungen insofern eine wichtige Rolle, als diese erst durch bestimmte Organismen weggenommen werden müssen, die ihrerseits nämlich zunächst unter vorwiegender CO_2- und anderer organischer Säurebildung und Schaumbildung nach vollständigem Verschwinden des Salpeters eine lebhafte Gärung unterhalten und so den Nährboden für die folgende Azotobaktervegetation vorbereiten helfen: läßt sodann die Gärung nach, sind nur noch geringe Mengen oder Spuren von den für gewöhnlich gegebenen Zuckermengen vorhanden, soweit man auf Grund der bekannten Zuckerreaktion überhaupt von Zucker reden kann, so tritt fast über Nacht eine starke Kahmhautbildung auf — die sogenannte Azotobaktervegetation. — Dem Verf. will es also scheinen, als ob ein Zerfall der Bakteroïden, Teilung und Wiederauswachsen in künstlichen Kulturen mit Impferde erst erfolgt, wenn gewisse lösliche Verbindungen, beispielsweise der Salpeter, sehr zu mangeln anfangen, oder ganz fehlen; ebenso, in Rohkulturen wenigstens, die löslichen organischen kohlenhydratartigen Stoffe, so daß die gebildeten organischen Säuren schließlich teilweise hydrolisierend, also zuckerbildend auf das Glykogen der Azotobakteroïden einwirken, d. h. damit auch ihren Zerfall und weitere Entwickelung verursachen. In irgend einer noch wenig aufgeklärten Weise wird allerdings die jeweilg vorhandene Phosphorsäuremenge der zugegebenen Salze mitwirken müssen. Analoge Kulturen müssen in geeigneter Weise natürlich u. a. auch weiterhin zunächst derartig angelegt werden, daß man die natürlichen Bedingungen im Ackerboden nachzuahmen und einigermaßen einzuhalten sucht, also direkte Bodenkulturen zum Studium heranzieht, welche einmal normalen H_2O-Gehalt, dann aber auch abnorm hohen bezw. niedrigen Gehalt an Wasser, wie auch an Salzlösung u. s. w. aufweisen. Bei normalem N-Gehalte von Erden pflegen übrigens nach den bisherigen Erfahrungen in künstlichen Rohkulturen mit Impferde — bei gleichzeitiger Phosphorsäuredüngung — im allgemeinen erst nach der Azotobaktervegetation (d. h. nach Stillstand derselben) mehr oder weniger reichliche Schimmelbildungen und Algenvegetationen aufzutreten.

In mehr oder weniger ähnlicher Weise lösen sich zweifellos auch in der

Natur selbst, also im Ackerboden, die einzelnen verschiedenartigen Organismenvegetationen und die spezifischen Wirkungen derselben als Gärungserscheinungen der verschiedensten Art, je nach der Zusammensetzung der Erde, einander ab, insbesondere wird aber auch der Nährboden für die Azotobaktervegetationen, welche uns ja mit in erter Linie den wichtigsten Dünger für unsere Kulturpflanzen auf ganz natürliche Weise liefern, durch gewisse Maßnahmen und Prozesse (durch andere Organismenwirkungen), erst in geeigneter Weise vorbereitet werden müssen, bevor an eine nennenswerte üppige Entwickelung, und damit verbunden, an eine umfangreichere, auch praktische Erfolge verbürgende Festlegung von freiem, ungebundenem N der Luft zu denken ist bezw. zu erwarten ist. Die mannigfachen, im Boden sich abspielenden Organismenwirkungen finden nun bekanntlich ihre natürliche Regelung, von der Zusammensetzung des Bodens abgesehen, durch Sonnenschein und Regen, (durch wärmeres und kälteres Wetter, Trockenheit und Feuchtigkeit), — in manchen Gegenden in intensiverer Weise durch natürliche und künstliche Bewässerung (Ueberschwemmungen) —; diese Vorgänge werden indessen durch Bodenbearbeitung, wie auch durch natürliche und künstliche Düngemittel in gar verschiedenartiger Weise beeinflußt. Neben anderen Stoffen spielen zweifellos auch gerade die Phosphorsäureverbindungen eine bedeutende Rolle bei diesen Gärungen; und allmählich wird man wohl von den verschiedensten Seiten mehr und mehr in das vielfach noch immer recht geheimnisvolle Dunkel der im Erdboden sich abspielenden Prozesse einzudringen und dasselbe etwas mehr als bisher aufzuklären wissen. Näheres über die speziellen Wirkungen der sogenannten Azotobakterorganismen soll indessen anderweitig erst im Zusammenhange mit den bisherigen Untersuchungen über die Brache bekannt gegeben werden. Auf alle Fälle also wird man aber gut tun, gerade auch bezüglich der Azotobakterorganismen die für dieselben besonders vorteilhaften bodenklimatischen Verhältnisse erst bis in alle Einzelheiten zu studieren, um alsdann die Entwickelung derselben unter möglichst verschiedenartigen Bedingungen kennen und damit zugleich beherrschen zu lernen, wie Verf. überhaupt im Sinne Remys die wohl einigermaßen berechtigte allgemeine Forderung stellen muß, daß die Hauptaufgabe der gegenwärtigen und künftigen bodenmykologischen Forschung darin besteht, die Verhältnisse im Boden, das „Bodenklima" so zu verändern, daß die einzuimpfenden bezw. vorhandenen Organismen in demselben nicht nur die Bedingungen zu ihrem Leben, sondern auch zu ihrer gedeihlichen Entwickelung und damit zur reichlichen Entfaltung ihrer spezifischen Tätigkeit vorfinden (cf. hierzu den Aufsatz Remys „Ueber die bakteriellen Hilfsmittel zur Erhaltung und Vermehruug der in der Wirtschaft umlaufenden N-Vorräte. Mentzel und Lengerkes Landw. Kalender. 1903. p. 84). Wie schon kurz vorher erwähnt bezw. angedeutet worden ist, haben wir nun als Mittel, die land- und forstwirtschaftlich wichtigen Bodenorganismen in ihrer Entwickelung zu fördern, außer dem möglichst eingehenden Studium des Lebens der Organismen vor allem eine durchgreifende Melioration (ganz besonders Entwässerung und Bewässerung des Bodens), sowie eine zweckmäßige Düngung und Bebauung zu berücksichtigen. Was übrigens die soeben noch erwähnten bezw. angedeuteten Bodenimpfungen in Form von Impferde oder Organismenreinkulturen, insbesondere auch diejenigen mit Knöllchenorganismen anbelangt, so wird man denselben selbst-

redend einen nicht hoch genug anzuschlagenden Studienwert beimessen müssen. In einer späteren Zeit muß und wird man nach den gemachten Erörterungen jedoch auch ohne irgend eine Impfung des Bodens auszukommen wissen.

Halle a. S., im November 1904.

Beiträge zur Erkenntnis des Einflusses verschiedener Kohlenhydrate und organischer Säuren auf die Metamorphose des Nitrats durch Bakterien.

[Aus der chemisch-physiologischen Versuchsstation an der k. k. böhm. technischen Hochschule in Prag.]

Von **J. Stoklasa** und **E. Vítek.**

(Schluß.)

Fassen wir die Resultate der angestellten Versuche in übersichtlicher Weise zusammen, so können wir aus denselben folgendes ableiten:

Das intermediäre Produkt aller angeführten Mikrobenarten, in welchem geeigneten kohlenstoffhaltigen Nährmedium von der früher angegebenen Zusammensetzung sie auch immer sich befinden mögen, ist die salpetrige Säure, welche durch Reduktion der Salpetersäure des Natriumnitrats entstanden ist. Die Fähigkeit, das Nitrat zu reduzieren, zeigen alle der genannten Mikrobenarten, allerdings in verschiedener Intensität.

Die Reduktion der Salpetersäure zu salpetriger Säure erfolgt durch den in statu nascendi sich bildenden Wasserstoff. Der Wasserstoff selbst entsteht wieder neben Kohlendioxyd durch die Zersetzung der Kohlenhydrate oder organischen Säuren durch Atmungsenzyme.

Nach unseren neuesten Untersuchungen werden gewisse Kohlenhydrate aus gewissen organischen Säuren, wenn sie als geeignete Nährsubstrate für Bakterien vorhanden sind, stufenweise gespalten und die Degradation derselben kennzeichnet sich durch die letzten Spaltungsprodukte Kohlendioxyd und Wasserstoff, welch letzterer unter Erfüllung verschiedener Aufgaben schließlich teilweise in statu nascendi auch zu Wasser oxydiert wird. So können wir uns die ungeheure Affirmität zum Sauerstoff erklären, welcher schon im ersten Anlaufe die Nitrate zu Nitriten reduziert.

Bei den Denitrifikanten sehen wir, daß, wenn ihnen gewisse Kohlenhydrate oder organische Säuren als passendes Nährmaterial geboten werden, der Abbau durch die Atmungsenzyme so schnell erfolgt, daß sich als Endprodukt einer Reihe vorhergegangener Prozesse verhältnismäßig sehr viel Wasserstoff und Kohlendioxyd bilden, wie aus dem angeschlossenen hypothetischen Schema des Abbaues der Glukose, verursacht durch Atmungsenzyme, ersichtlich ist.

Als erste Abbauprodukte z. B. der Kohlenhydrate müssen wir Milchsäure, Alkohol und Kohlendioxyd ansehen. Wir können allerdings vorläufig nicht sagen, ob es der entstandene Alkohol oder der entwickelte Wasser-

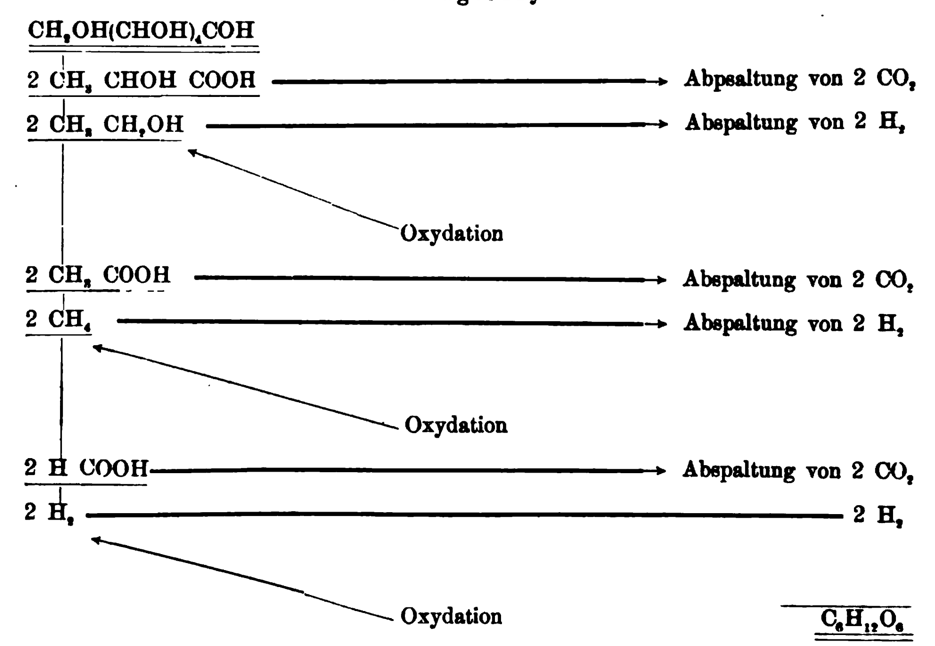
stoff ist, welcher die Zersetzung des Salpetersäuremoleküls bis auf elementaren Stickstoff herbeiführt.

Es ist nämlich möglich, daß auf ein Molekül Alkohol zwei Moleküle salpetrige Säure wirken, nach der Gleichung:

$$C_2H_6O + 2N_2O_3 = 2CO_2 + 4N + 3H_2O$$

Diese unsere Anschauung wird um so plausibler, wenn man bedenkt, daß durch den Atmungsprozeß der Denitrifikanten sich verhältnismäßig sehr viel salpetrige Säure und auch Alkohol bilden, durch welch' letzteren dann nach der oben zitierten Gleichung der elementare Stickstoff gebildet wird.

Hypothetisches Schema des Abbaues der Glukose, verursacht durch Atmungsenzyme.



Bei den Ammonisationsbakterien sehen wir die Bildung von salpetriger Säure in verhältnismäßig viel geringerem Maße, wenn auch ebenfalls stufenweise, auftreten. Auch der Abbau der Kohlenhydrate geht nicht so rasch vor sich wie bei den Denitrifikanten, wie wir uns durch Studien über die Atmung beider Mikrobengruppen überzeugt haben.

Den Ammonisationsprozeß der Nitrate resp. Nitrite können wir uns dann in folgender Weise vorstellen:

$$C_2H_6O + N_2O_3 = 2\,CO_2 + 2\,NH_3$$ [1]).

Damit soll allerdings nicht gesagt sein, daß wir diese Hypothese als „Theorie" erklärt wissen wollen; sondern es dürften sich, da wir unsere Studien über das Verhalten der Bakterien bei der Assimilation und Dissimilation noch fortsetzen, noch viel fixere Punkte für die Be-

1) Die Richtigkeit dieser Voraussetzungen bewiesen wir an einer Reihe von Versuchen, bei denen die alkoholische Gärung neben der Milchsäuregärung dokumentiert und der Alkohol bestimmt wurde. Diese Versuche sind Gegenstand einer ganz besonderen Studie, welche demnächst als selbständige Arbeit publiziert werden wird.

urteilung der Vitalvorgänge in der Entwickelung der Mikroben und der sie begleitenden Stoffwechselprozesse ergeben.

Das eben Gesagte soll nur ein Ausdruck unserer Ansichten nach dem momentanen Stande unserer Untersuchungen und ihrer Ergebnisse sein.

Soviel steht aber heute schon fest, daß der Wasserstoff, welcher durch den stufenweisen Abbau der Kohlenhydrate und organischen Säuren als letztes Produkt neben Kohlendioxyd entsteht, die Reduktion der Salpetersäure in salpetrige Säure verursacht, und vielleicht auch bei der Ammonisation der Nitrite eine große Rolle spielt.

Wie das Nitrat zu Nitrit durch den entwickelten Wasserstoff reduziert wird, so werden auch in entsprechenden Nährmedien die Chlorate in Chloride, die Arseniate in Arsenite, die Ferricyanide zu Ferrocyaniden durch die Tätigkeit der Denitrifikanten reduziert.

Wir erklären uns den Chemismus der Salpetergärung und die Energie bei der Sprengung des Salpetermoleküls durch das Sauerstoffbedürfnis der Denitrifikanten, wie wir uns durch unsere Versuche über die aërobe und anaërobe Atmung derselben überzeugt haben.

Wie schon hervorgehoben, zeichnen sich die Denitrifikanten durch den raschen Abbau der Kohlenhydrate und organischen Säuren aus, und die schnelle Oxydation der in statu nascendi entstandenen Abbauprodukte wiederum, d. i. des Alkohols und des Wasserstoffs, verursacht die Sprengung des Nitritmoleküls.

Es muß hier auch betont werden, daß die Denitrifikanten neben ihrem großen Sauerstoffbedürfnis zum Aufbau ihres neuen lebenden Moleküls mit Vorliebe den Salpeterstickstoff aufnahmen, und dieser dient auch zur rasch verlaufenden Eiweißsynthese. — Diese Assimilation des Salpeterstickstoffs erfolgt sogar in demselben Nährmedium bei Gegenwart von Amiden, welche fast vollständig unberührt bleiben, wie wir schon des näheren in unserer Studie: „Ueber den Einfluß der Bakterien auf die Zersetzung der Knochensubstanz“ [1]) berichtet haben.

Man sieht, daß die Denitrifikanten, wenn sie geeignete Kohlenstoffquellen in Form von organischen Säuren oder Kohlenhydraten finden, die Entwickelung der Bakterienmaterie sehr rasch und auf Kosten des Salpeterstickstoffs erfolgt, und diese neugebildete Bakterienmaterie kennzeichnet sich wieder in einem passenden Nährmedium durch große Atmungsintensität, was einen raschen Stoffwechselprozeß zur Folge hat.

Aus der ganzen Arbeit geht hervor, daß die Bildung neuer lebender Materie der Mikrobenzelle, die insbesondere durch Eiweißsynthese charakterisiert ist, bei welcher als Stickstoffquelle Salpeter dient, abhängig ist, von einer passenden Kohlenstoffquelle, also Kohlenhydraten und organischen Säuren, deren Qualifikation in unserer Arbeit genau präzisiert erscheint.

Wir haben hier einen ähnlichen Prozeß vor uns, wie er in jeder chlorophyllhaltigen Pflanzenzelle sich abspielt. Der Unterschied ist hier nur der, daß die chlorophyllhaltige Zelle sich selbst durch photosynthetische

1) Siehe Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie von J. Hofmeister. Bd. III. Heft 7 u. 8.

Prozesse geeignete Kohlehydrate oder organische Säuren produziert und bei Gegenwart von Salpetersäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kali, Eisenoxyd und Magnesiumoxyd die Eiweißsynthese vor sich geht, während bei unseren Studien der Zweck der war, nachzuforschen, welche Form von Kohlehydraten und organischen Säuren bei Gegenwart von Salpeterstickstoff zum raschen Aufbau neuer lebender Bakterienmaterie am besten geeignet ist, wobei sich der Stoffwechselprozeß einmal in der Denitrifikation der Nitrate charakterisiert, das andere Mal in der Ueberführung der Nitrate in Ammoniak.

Die gesammelten und von der Nährflüssigkeit befreiten Reinkulturen, und zwar die Denitrifikations- und Ammonisationsbakterien ergaben in der Trockensubstanz $9^1/_2$—14 Proz. Stickstoff. In den angeschlossenen Tabellen A und B sieht man, wie die Hexosen, und zwar die Glukose, Fruktose und Galaktose, von den Pentosen die Xylose und Arabinose, von den organischen Säuren die Milchsäure, Valerian- und Bernsteinsäure geeignet sind, bei allen angeführten Species von Bakterien zur Bildung von organischem Stickstoff aus der Salpetersäure, die sich in der Lösung vorfindet, beizutragen.

Wir finden, daß von dem Gesamtstickstoff ungefähr bis 33 Proz. in organische Form, und zwar namentlich in Eiweißform umgewandelt wurden, wobei noch zu bemerken ist, daß ein Teil des Stickstoffs in Form von Nukleinen, Lecithinen u. s. w. vorhanden ist.

Tabelle A.

Mikrobenart	Festgestellte Menge organischen Stickstoffs im Nährmedium, enthaltend:								
	Glukose Proz.	Lävulose Proz.	Galaktose Proz.	Saccharose Proz.	Arabinose Proz.	Xylose Proz.	Milchsäure Proz.	Valeriansäure Proz.	Bernsteinsäure Proz.
Proteus vulgaris	7,59	5,52	7,24	—	—	3,97	10,34	3,45	8,62
Proteus Zenkeri	11,35	1,72	—	—	2,41	—	5,17	3,45	—
Bac. mesent. vulgaris	—	5,11	4,84	—	7,57	—	3,45	3,45	12,07
Bac. ramos. n. liquef.	9,83	1,79	3,45	—	—	3,77	5,17	5,17	8,62
Bac. subtilis	8,83	5,30	4,14	—	11,90	5,34	6,90	6,90	3,45
Bac. mycoides	13,36	4,84	5,17	—	2,71	—	—	6,90	4,31
Bac. megatherium	10,34	6,90	—	—	—	—	12,07	13,79	5,17
Clostridium gelat.	11,21	—	—	—	5,17	6,28	—	—	—
Bac. prodigiosus	—	—	—	—	6,90	4,46	—	—	—
Bac. typhi abd.	—	0,52	11,95	—	5,52	—	—	5,17	—

Tabelle B.

Mikrobenart	Glukose Proz.	Lävulose Proz.	Galaktose Proz.	Saccharose Proz.	Arabinose Proz.	Xylose Proz.	Milchsäure Proz.	Valeriansäure Proz.	Bernsteinsäure Proz.
Bact. Hartlebi	6,03	12,41	12,41	15,52	33,62	7,50	13,79	8,62	12,50
Bac. fluores. liquefac.	10,34	6,90	5,17	—	7,57	9,31	8,62	12,93	10,34
Bact. pyocyaneum	6,90	8,62	5,17	—	8,25	—	12,07	13,79	12,07
Bact. Stutzeri	5,95	5,17	—	—	3,39	2,15	15,52	13,79	12,07
Bact. filefaciens	11,08	1,72	3,20	—	1,72	2,59	17,24	13,79	15,52
Bact. centropunctatum	8,62	8,62	—	—	—	2,76	13,79	10,34	10,34
Bact. nitrovorum	1,59	3,45	5,17	—	1,72	3,88	12,07	12,07	8,62
Bact. denitrificans	3,45	—	5,05	—	3,10	1,38	—	5,17	—
Bact. coli commune	5,17	2,59	1,72	—	—	5,46	13,79	5,17	—
Bact. denitrificans + Bact. coli commune	6,90	6,19	5,60	—	—	9,27	8,62	—	9,48

Das Ergebnis dieser Untersuchungen macht es auch begreiflich, daß die große Streitfrage, ob die Eiweißsynthese in der chlorophyllhaltigen Zelle im Dunkeln oder bei Einwirkung von Sonnenstrahlen vor sich geht, eine vollständig müssige ist, denn wenn die chlorophyllhaltige Zelle durch photosynthetische Prozesse die geeigneten Kohlenhydrate oder organischen Säuren zu bilden verhindert ist, so ist auch selbst bei Gegenwart von Salpetersäure und allen übrigen organischen Nährstoffen die Eiweißsynthese einfach unmöglich; ist aber ein Vorrat dieser organischen Säuren und Kohlenhydrate bereits vorhanden, dann kann die Eiweißsynthese auch im Dunkeln vor sich gehen und die Chlorophyllzelle arbeitet wie jede von uns in Beobachtung gezogene Bakterienzelle.

Die Resultate dieser unserer Studien geben uns einen Fingerzeig hinsichtlich der Metamorphose des Salpeters im Boden und im Stalldünger. Wir sehen, daß diejenigen Kohlenhydrate, die im Boden vorhanden sind oder sich bilden können, nicht als vorzügliche Nährmaterialien für Denitrifikationsbakterien zu betrachten sind, aber für eine langsame Ammonisation der Salpetersäure resp. salpetrigen Säure immerhin tauglich erscheinen.

Wir wollen hier nur noch daran erinnern, daß die Pentane: **Xylan** und **Araban** zu den verbreitetsten Kohlenhydraten gehören, welche im Boden und Stalldünger vorhanden, durch Hydrolyse in gärungsfähige Pentosen, in Xylose und Arabinose, übergeführt werden. Diese haben sich als Kohlenstoff- und Energiequelle zur Sprengung des Salpetermoleküls bis auf elementaren Stickstoff sehr schlecht bewährt. Wir finden aber, daß der typische Denitrifikant, der Bacillus Hartlebi, in der Arabinose aus dem Salpeter 33,62 Proz. des Gesamtstickstoffs assimiliert hat, und zwar zum Zwecke des Aufbaues der Eiweißstoffe.

Im Boden sind leicht gärungsfähige Kohlenhydrate, wie die Hexosen und die besonders für diese Denitrifikationsprozesse günstigen organischen Säuren, z. B. Citronensäure, selbstverständlich nicht etwa in solcher Menge, wie in der Giltayschen Nährlösung vorhanden und ist daher die bequeme Möglichkeit nicht geboten, daß die Denitrifikationsprozesse mit solcher Intensität und vor allem solch „verblüffender" Präzision auftreten, wie dies bei gewissen Laboratoriumsversuchen der Fall ist.

Die Denitrifikation, wo sie in der Ackererde vorkommt, spielt überhaupt im Verhältnisse zur Nitrifikation und Ammonisation nur eine untergeordnete Rolle. Unsere neuen Versuche zum Zwecke der Durchforschung der heimischen Rübenböden, bei welcher man mit der Salpeterdüngung rechnen muß, haben uns vielmehr belehrt, daß in diesen Böden die Ammonisationsbakterien, welche bekanntlich den Nitratstickstoff in Ammoniak überführen, prävalieren.

Wir verweisen hier nur auf die ungemeine Verbreitung von Clostridium gelatinosum in den böhmischen Rübenböden, welchen Bacillus schon Laxa und Velich (siehe Berichte der Versuchsstation für Rübenzuckerindustrie an unserer technischen Hochschule. VII. 1902) in großen Massen auf den Rübenwurzeln konstatiert haben. Unsere Untersuchungen bestätigen diese Befunde der genannten Forscher in vollem Umfange und wir sehen, daß dem Clostridium gelatinosum mit einer Reihe anderer Ammonisationsbakterien, so dem Bacillus mycoides, Bacillus subtilis, Bacillus me-

sentericus vulgatus etc. eine wichtige Rolle bei der Umwandlung des Nitratstickstoffs in Ammoniakstickstoff zugewiesen ist.

Es genügt, darauf hinzuweisen, daß, wie wir oben hervorhoben, Bacillus Clostridium gelatinosum in der Arabinose fast 46 Proz. des gesamten Nitratstickstoffs in Ammoniak übergeführt hat und dabei fast 6 Proz. des Gesamtstickstoffs zur Eiweißsynthese verbrauchte[1]).

Wie aus der vorliegenden Arbeit ersichtlich, ist das Clostridium gelatinosum durch eine eminente Potenz bei der Ueberführung der Salpetersäure in Ammoniak charakterisiert.

In unserer nächsten Arbeit werden wir genau präzisieren, welche Kohlenhydrate und organische Säuren nach dem neuesten Stande unserer Untersuchungen im Boden und Stalldünger vorkommen und ihre Einwirkung auf die Metamorphose des Salpeters darlegen.

Literatur.

Ampola, G. und Garino, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. p. 670. Bd. III. p. 309.
Ampola, G. und Ulpiani, Gazz. chim. ital. Vol. I. 1898. p. 38. 1899. p. 29.
Baur, E., Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen. Herausgegeben von der Kommission zur Untersuchung der deutschen Meere in Kiel und der biologischen Anstalt auf Helgoland. Abt. Kiel. Bd. VI. 1901.
Béchamp, Ref. Chemik.-Zeitung. 1898. Rep. 264.
Bergmann, Zeitschr. f. analyt. Chemie. 1888.
Burri, R., Herfeld, E., Stutzer, A., Journal f. Landwirtschaft. 1894. p. 329.
Burri, R. und Stutzer, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. p. 257, 350, 392, 422.
Bréal, Annal. agronom. T. XVIII. No. 1, 4; Compt. rend. T. XCIV. 1892. p. 681.
Christensen, H. R., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. p. 190.
Dehérain, P. P., Compt. rend. de l'Acad. d. sciences. 1897. p. 269. 1. sem.
Dehérain und Maquenne, Compt. rend. T. XCV. 1882. p. 691, 732, 854.
Dietzel, B. E., Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XV. 1882. p. 551.
Dieudonné, A., Arbeiten a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. XI. 1895. p. 508.
Egunov, M., Mémoires de l'inst. agr. et for. Nowo-Alexandre (Russie). T. X. 1895.
Ehrenberg, A., Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. XI. p. 145, 483.
Flügge, Mikroorganismen. Bd. I. p. 119.
Frankl, C., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. p. 8, 62.
Gärtner, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. p. 1, 52, 109.
Gayon und Dupetit, Compt. rend. T. XCV; Annales de la science agron. 1886.
Giltay, E. und Aberson, H. J., Archiv néerland. T. XXV. p. 341.
Göppelsröder, Poggendorfs Annalen. Bd. CXV. p. 125.
Grimbert, Ref. Chemik.-Zeitung. 1898. p. 1092.
Heraeus, W., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. I. p. 193—234.
Herz, J., Repet. f. analyt. Chemie. 1886. p. 360.
Herfeldt, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. p. 74, 114.
Höflich, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 245, 273, 305, 336, 361, 398.
Hugouneng et Doyon, La semaine médicale. 1898. p. 269.
van Iterson, G. jr., Verlagen der koninkl. Akad. van Wetensch. te Amsterdam. Vol. XI. 1902—1903; Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. p. 106.
Jensen, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. p. 622; Bd. IV. p. 401, 449; Bd. V. p. 716; Bd. VII. p. 637.
Künnemann, O., Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. L. 1898. p. 65.
Klet, Ad., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIII. 1900. p. 137.
Krüger, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. p. 4.

1) In seiner neuesten Arbeit „Die Mikroorganismen in den Säften der Zuckerfabriken" (Zeitschr. d. Ver. d. Zuckerindustrie. 1904) teilte auch Albert Schöne mit, daß Clostridium gelatinosum zu der speziellen Flora des Rübenbodens und der Rübenpflanzen gehört.

Krüger, W. und Schneidewind, W., Landw. Jahrbücher. Bd. XXVIII. 1899. Heft 1/2; Bd. XXIX. 1900. Heft 4 u. 5.

Laurent, Chemisches Centralbl. 1896.

Lawes, Gilbert and Warington, On the auroant and composition of the rainand drain a gewaters. London 1882. (Warington. Sixe lectures etc.)

Leone, F., Atti. d. R. Soc. d. Lincei. Rend. 1889. II. Sem. p. 171—175. (Bericht der deutschen chem. Gesellsch. Bd. XXIII. p. 179.)

Marpmann, G., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. p. 67; Sitzungsberichte der naturforschenden Gesellschaft zu Leipzig. Jahrg. XXVI u. XXVII. Leipzig 1901. p. 1—10.

Maassen, A., Arbeiten aus dem kais. Gesundheitsamte. Bd. XVIII. 1901. Heft 1.

Munro, Chem. News. Vol. LIII. p. 317.

Müntz, Annalen chem. Phys. 1887. p. 11, 125.

Pfeiffer und Lemmermann, Landwirtsch. Versuchsst. Bd. L. p. 117, 123—133.

Richards, Ellen H. and Rolfs, G. W., Reduction of nitrates by bacteria and consequent loss of nitrogen. Fecht. Auart. Vol. IV. 1896. No. 1. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. p. 709.

Rogóyski, K., Veröffentlichungen der Akademie der Wissenschaften in Krakau. 1900.

Salzmann, P., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 347.

Sewerin, S. A., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. p. 97, 160, 799; Bd. III. p. 504, 554, 628, 706; Bd. VII. p. 369.

Schirokikh, J., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. p. 204.

Schloesing, Th., Compt. rend. T. LXVI. p. 237; T. LXXVII. 1875. p. 203, 353.

Schloesing, Th. et Müntz, Compt. rend. T. LXXXIX. p. 1074.

Springer, American. chem. Journ. Vol. IV. p. 452—453. Ref. Bericht d. deutschen chem. Gesellsch. Bd. XVI. p. 1228.

Spieckermann, Nach Lemmermann: Kritische Studien über Denitrifikationsvorgänge. Jena 1900.

Stoklasa, J., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. p. 817; Vortrag auf der 75. Versammlung der Naturforscher und Aerzte in Hamburg. (Deutsche landw. Presse. 1901. No. 79 u. 81.)

Stoklasa, J. und Vitek, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 257.

Stutzer, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. p. 698; Bd. VII. p. 81.

Stutzer, A. und Hartleb, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. p. 654, 161, 235, 311, 351.

Stutzer, A. und Maul, R., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. p. 473.

Tacke, B., Landw. Jahrb. Bd. XVI. p. 917; Bd. XVIII. p. 439.

Wagner, P., Deutsche landw. Presse. 1895; Landw. Versuchsst. Bd. XLVIII. 1897. p. 247.

Warington, R., Six lectures on the investigations at Rothamsted experimental station, 1892. (Journal of the Royal society of England. Series III. Vol. VIII. 1897.)

Weissenberg, H., Archiv f. Hygiene. Bd. XXX. 1897. Heft 4; Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 166.

Wolf, K., Hygienische Rundschau. Jahrb. IX. No. 11, 23.

Tabelle I. Glukose.

Mikrobenart	Dauer des Versuchs	Reaktion nach dem Versuche	Reaktion der Lösung auf		Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatiert. Stickstoffs	Unterschied in Proz.	Glukose	
			Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destill. m. MgO	NH_3 durch Destill. NaOH	Nitrat. u. Nitriten	organ. Stickstoff in der Lösung	organ. Stickstoff i.d.entst. Kultur			konstatierte	Verlust
					g	g	g	g	g	g		g	Proz.
Bact. Hartlebi	30 Tage, 7 Tg. stürm. Gär.	schwach alkalisch	zeigte sich nicht	zeigte sich nicht	—	—	—	0,0112	0,0084	0,0196	— 93,97	θ	— 100 [1]
Bac. fluoresc. liquef.	30 Tage, 3 Tg. starke Gär.	„ „	„ „ „	„ „ „	0,0168	0,028	θ	0,0336	—	0,0504	— 84,48	θ	— 100 [2]
Bact. pyocyaneum	44 Tage, 3 Tg. starke Gär.	„ „	stark	schwach	0,0168	—	0,0168	0,0224	—	0,0560	— 82,76	θ	— 100 [3]
Bact. Stutzeri	50 Tage	„ „	sehr schwach	sehr stark	0,00784	0,0098	0,2980	0,01932	—	0,32516	+ 0,11	1,47057 †)	— 7,63 [4]
Bact. filefaciens	50 „	„ „	sehr stark	„ „	0,03136	0,03696	0,2576	0,03598	—	0,32494	—	0,58418 †)	— 63,3 [5]
Bact. centropunctatum	48 „	neutral	schwach	stark	—	—	0,2800	0,0280	—	0,3080	— 5,17	1,6600 *)	— [5]
Bact. nitrovorum	48 „	schw. alkal.	sehr schwach	sehr stark	0,00672	0,0084	0,3136	0,00516	—	0,32548	+ 0,21	1,4544 †)	— 8,64 [5]
Bac. denitrificans	50 „	„ „	„ „	„ „	—	—	0,2912	0,0112	—	0,3024	— 6,89	1,5520 *)	— [6]
Bact. coli commune	50 „	„ „	„ „	„ „	—	—	0,2856	0,0168	—	0,3024	— 6,89	1,6720 *)	— [6]
Bac. denitrif. + Bact. coli commune	50 „ schw. Gärung	alkalisch	„ „	„ „	—	—	0,0224	0,0224	—	0,0448	— 86,2	0,1520 *)	— [7]
Proteus vulgaris	45 Tage	neutral	sehr stark	„ „	0,00896	0,00784	0,2912	0,02464	—	0,3248	θ	0,24402 †)	— 84,67 [8]
Proteus Zenkeri	46 „	schw. alkal.	stark	„ „	0,04256	0,04694	0,2464	0,03686	—	0,32582	+ 0,31	θ	— 100 [9]
Bac. mycoides	30 „	„ „	„	„ „	0,0672	—	0,2072	0,0434	—	0,3178	— 2,15	0,8880 *)	— [10]
Bac. subtilis	34 „	neutral	sehr stark	„ „	0,00784	0,01036	0,2912	0,02868	—	0,32772	+ 0,89	0,19715 †)	87,61 [11]
Bac. megatherium	30 „	alkalisch	„ „	„ „	0,0280	—	0,2632	0,0336	—	0,3248	—	θ †)	— 100 [12]
Bac. typhi abdom.	30 „	neutral	Spuren	„ „	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	1,9149 *)	θ [13]
Clostridium gelatinosum	40 „	schw. alkal.	sehr stark	stark	0,04704	0,0504	0,2352	0,0364	—	0,31864	— 1,89	0,24644 †)	84,52 [14]
Bac. ramos. n. liquefac.	40 „	neutral	„ „	sehr stark	0,01064	0,01064	0,2800	0,03192	—	0,32256	— 0,69	0,1972 †)	— 87,61 [15]
Kontrolkolben *)	—	—	—	—	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	—	— [16]
„ †)	—	—	—	—	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	1,5920	— [16]

Anmerkungen. 1) Die Kultur klumpenförmig. 2) Stark entwickelte Kultur. 3) Schwach entwickelte Kultur. 4) Der Kolbeninhalt stark getrübt. 5) Die Lösung merklich getrübt. 6) Die Lösung sehr schwach getrübt. 7) Die Lösung merklich getrübt. 8) Die Lösung deutlich getrübt. 9) Die Lösung merklich getrübt. 10) Der Inhalt merklich getrübt. 11) Lösung merklich getrübt. 12) Der Inhalt der Kolben sehr getrübt. 13) Die Lösung blieb fast klar. 14) Kolbeninhalt merklich getrübt. 15) Der Inhalt merklich getrübt. 16) In beiden Fällen blieb der Kontrolkolbeninhalt steril.

Tabelle II. Lävulose.

Mikrobenart	Dauer des Versuchs	Reaktion nach dem Versuche	Reaktion der Lösung auf		Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatiert. Stickstoffs	Unterschied in Proz.	Lävulose	
			Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destill. m. MgO	NH_3 durch Destill. NaOH	Nitrat. u. Nitriten	organ. Stickstoff in der Lösung	organ. Stickstoff i.d.entst. Kultur			konstatierte	Verlust
					g	g	g	g	g	g		g	Proz.
Bact. Hartlebi	35 Tage, a. 5. Tg. Beginn der Gär.	schwach alkalisch	nicht aufgetreten	nicht aufgetreten	—	—	—	0,0403	—	0,0403	— 87,59	θ	100 [1])
Bac. fluoresc. liquef.	35 Tage, a. 3. Tg. Beginn der Gär.	„ „	Spuren	stark	0,014	0,015	0,1008	0,0224	—	0,1372	— 57,76	0,4121 *)	69,98 [2])
Bact. pyocyaneum	32 Tage, a. 3. Tg. Beginn der Gär.	„ „	„	sehr schwach	0,0196	0,021	0,0448	0,0280	—	0,0924	— 71,55	0,202 *)	85,28 [2])
Bact. Stutzeri	30 Tage	„ „	nicht aufgetr.	sehr stark	θ	θ	0,3080	0,0168	—	0,3248	θ	1,192 *)	13,18 [3])
Bact. filefaciens	30 „	neutral	sehr schwach	„ „	0,0039	0,00504	0,3192	0,0056	—	0,3287	+ 1,2	1,5328 †)	16,07 [3])
Bact. centropunctatum	30 „	„	schwach	„ „	0,0084	0,0092	0,2744	0,0280	—	0,3108	— 4,31	0,9888 *)	27,98 [3])
Bact. nitrovorum	30 „	„	nicht aufgetr.	„ „	θ	θ	0,2968	0,0112	—	0,3080	— 5,17	0,9472 *)	31,01 [3])
Bact. coli commune	30 „	schw. alkal.	„ „	„ „	0,0084	0,0090	0,3080	0,0084	—	0,3248	θ	1,3356 *)	2,73 [4])
Bact. coli commune + Bac. denitrificans	30 „	„ „	sehr stark	„ „	0,00784	0,00896	0,2968	0,02012	—	0,32476	θ	Spuren	100 [5])
Proteus vulgaris	50 „	„ „	„ „	„ „	0,01904	0,0202	0,2884	0,01792	—	0,32536	+ 0,17	Spuren †)	100 [5])
Proteus Zenkeri	36 „	„ „	stark	„ „	θ	θ	0,3192	0,0056	—	0,3248	θ	1,1712 *)	14,70 [6])
Bac. mesentericus vulgatus	37 „	„ „	schwach	„ „	0,0168	0,0174	0,2912	0,0166	—	0,3246	θ	Spuren †)	100 [5])
Bac. ramosus n. liquef.	30 „	„ „	nicht aufgetr.	„ „	0,0084	0,0091	0,3136	0,0058	—	0,3248	θ	1,3592 *)	1,01 [6])
Bac. mycoides	30 „	neutral	sehr schwach	„ „	0,00616	0,00672	0,3024	0,01572	—	0,32428	— 0,16	1,68872 †)	7,54 [6])
Bac. subtilis	30 „	schw. alkal.	sehr stark	„ „	0,02128	0,0263	0,2856	0,01720	—	0,32408	— 0,22	Spuren †)	100 [7])
Bac. megatherium	30 „	„ „	„ „	„ „	0,0112	0,0130	0,2912	0,0224	—	0,3248	θ	0,5898 *)	57,04 [8])
Bac. typhi abdominalis	30 „	neutral	sehr schwach	„ „	0,00392	0,00448	0,3192	0,00168	—	0,3248	θ	1,27826 †)	30,01 [9])
Kontrolkolben *)	—	„	—	—	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	1,3731	— [10])
„ †)	—	„	—	—	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	1,8264	— [11])

Anmerkungen. 1) Lösung stark getrübt; die Kultur in Form einer „Haut". 2) Die Lösung stark getrübt. 3) Lösung schwach getrübt. 4) Lösung blieb fast klar. 5) Kolbeninhalt merklich getrübt. 6) Lösung fast klar. 7) Merkliche Trübung im Kolben. 8) Lösung merklich getrübt. 9) Schwache Trübung im Kolben. 10) Verwendete Lävulose für diese Kolbengruppe von syrupartiger Beschaffenheit. 11) Lävulose als festes Präparat. In beiden Fällen blieb der Kontrollkolbeninhalt steril.

Tabelle III. Galaktose.

Mikrobenart	Dauer des Versuchs	Reaktion nach dem Versuche	Reaktion der Lösung auf		Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatiert. Stickstoffs	Unterschied in Proz.	Galaktose	
			Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destill. m. MgO	NH_3 durch Destill. NaOH	Nitrat. u. Nitriten	organ. Stickstoff in der Lösung	organ. Stickstoff i.d.entst. Kultur			konstatierte	Verlust
					g	g	g	g	g	g		g	Proz.
Bact. Hartlebi	40 Tage; Beg. der Gärung a. 5 T.	schwach alkalisch	stark	schwach	0,0056	0,0168	0,0364	0,0403	—	0,0823	— 74,66	θ*)	100 1)
Bac. fluoresc. liquef.	37 Tage; Beg. der Gärung a. 6 T.	neutral	sehr stark	sehr stark	θ	θ	0,1848	0,0168	—	0,2016	— 37,93	0,4837 ††)	57,44 2)
Bact. pyocyaneum	40 Tage; Beg. der Gärung a. 6 T.	„	schwach	„ „	θ	θ	0,2408	0,0168	—	0,2576	— 20,69	0,7673 ††)	32,48 2)
Bact. Stutzeri	30 Tage	„	trat nicht ein	„ „	θ	θ	0,3192	—	—	0,3192	— 1,72	1,6833 †)	2,13 3)
Bact. filefaciens	37 „	„	schwach	„ „	0,0040	0,0034	—	0,0104	—	—	—	1,6376 *)	θ 3)
Bact. centropunctatum	44 „	„	trat nicht ein	„ „	θ	θ	0,3248	θ	—	0,3248	θ	1,1364 ††)	θ 4)
Bact. nitrovorum	31 „	„	„ „ „	„ „	θ	θ	0,2996	0,0168	—	0,3164	— 2,58	1,5453 †)	10,15 5)
Bac. denitrificans	40 „	„	merklich	„ „	θ	0,0017	0,2968	0,0164	—	0,3149	— 3,04	1,3500 *)	17,56 6)
Bact. coli commune	30 „	„	trat nicht ein	„ „	θ	θ	0,3192	0,0056	—	0,3248	θ	1,0554 ††)	7,13 7)
Bact. coli commune + Bac. denitrificans	37 „	„	sehr stark	„ „	0,00896	0,0106	0,2800	0,01820	—	0,30716	— 5,43	1,1328 *)	30,83 8)
Proteus vulgaris	35 „	„	stark	„ „	0,00896	0,0062	0,2924	0,02352	—	0,32488	θ	1,3962 *)	14,74 8)
Bac. mesent. vulgatus	38 „	schw. alkal.	„	„ „	0,01808	0,0140	0,2912	0,01572	—	0,3250	θ	0,2323 *)	85,81 9)
Bac. ramosus n. liquef.	30 „	neutral	sehr schwach	„ „	θ	θ	0,3136	0,0112	—	0,3248	θ	1,5029 †)	12,62 10)
Bac. mycoides	36 „	„	„ „	„ „	0,0056	0,00784	0,3024	0,0168	—	0,3248	θ	1,3980 *)	14,63 11)
Bac. subtilis	26 „	schw. alkal.	stark	„ „	0,02016	0,02072	0,2912	0,01344	—	0,3248	θ	0,41976 *)	74,37 11)
Bac. typhi abdominalis	37 „	neutral	merklich	„ „	0,0048	0,00504	—	0,0388	—	—	—	1,3719 *)	16,22 12)
Kontrolkolben *)	—	„	—	—	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	1,6376	— 13)
„ †)	—	„	—	—	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	1,7200	— 13)
„ ††)	—	„	—	—	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	1,1364	— 13)

Anmerkungen. 1) Die Lösung stark getrübt. Die Kultur in Form einer Haut. 2) Lösung getrübt. 3) Die Lösung blieb fast klar. 4) Die Lösung blieb klar. 5) Die Lösung einigermaßen getrübt. 6) Lösung schwach getrübt. 7) Kolbeninhalt klar geblieben. 8) Kolbeninhalt merklich getrübt. 9) Kolbeninhalt schwach getrübt. 10) Lösung einigermaßen getrübt. 11) Lösung deutlich getrübt. 12) Die Lösung schwach getrübt. 13) Verwendet wurden verschiedene Präparate; die Kolben blieben steril.

Zur Tabelle I und III. (Ergänzungstabelle.)

Mikrobenart	Gewonnene Menge von NH_3 umgerechnet auf Stickstoff (g)			Anmerkungen
	Durch Destillation mit		Methode Baumann-Böhmer	
	MgO	NaOH		
Bact. Stutzeri	0,00784	0,0098	0,01092	Die Versuche wurden in Glukose durchgeführt: 2 g Glukose, 2 g $NaNO_3$ 100 ccm anorganischen Nährstoffs in 1000 ccm Wasser. — In diesen Fällen wurde das Filtrat nach der Fällung der Eiweißstoffe nach Stutzer nur mäßig mit H_2SO_4 angesäuert und nach Abdampfen der Flüssigkeit auf ein entsprechendes Volumen direkt vor der Fällung die erforderlichen 50 ccm H_2SO_4 (1:1) hinzugefügt.
„ filefaciens	0,03136	0,03696	0,021	
Bact. nitrovorum	0,01008	0,0084	0,00672	
Proteus Zenkeri	0,04256	0,04704	0,02856	
Bac. denitrificans	—	0,0017	0,0032	Die Versuche wurden in Galaktose gemacht: 2 g Galaktose, 2 g $NaNO_3$ 100 ccm anorganischen Nährstoffes in 1000 ccm Wasser.
„ denitrificans und Bact. coli commune	0,00896	0,0106	0,01092	
Proteus vulgaris	0,00896	0,0062	0,01092	
Bac. subtilis	0,02016	0,02072	0,0168	
Bac. mesentericus vulgatus	0,01792	0,01652	0,01736	
„ mycoides	0,0056	0,00784	0,0100	
„ typhi abdominalis	0,0048	0,00504	0,0048	

Tabelle IV. Arabinose.

Mikrobenart	Dauer des Versuchs	Reaktion nach dem Versuche	Reaktion der Lösung auf		Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatierten Stickstoffs	Unterschied in Proz.	Arabinose	
			Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destill. m. MgO	NH_3 durch Destill. NaOH	Nitrat. u. Nitriten	organ. Stickstoff in der Lösung	organ. Stickstoff i.d.entst. Kultur			konstatierte	Verlust
					g	g	g	g	g	g		g	Proz.
Bact. Hartlebi	50 Tage, läng. Zeit schwach gegoren	schwach alkalisch	nicht aufgetreten	nicht aufgetreten	0,0280	—	—	0,1092	—	0,1092	— 66,38	Spuren	100 [1]
Bac. fluoresc. liquefac.	50 Tage, läng. Zeit schwach gegoren	„ „	schwach	sehr stark	0,0084	0,0168	0,2688	0,0246	—	0,3018	— 7,08	„	100 [2]
Bact. pyocyaneum	50 Tage	neutral	sehr schwach	„ „	θ	0,0112	0,2980	0,0268	—	0,3248	θ	1,2480	36,33 [3]
Bact. Stuzeri	50 „	„	schwach	„ „	0,0080	0,0202	0,3136	0,0110	—	0,3326	+ 2,4	1,7760	9,38 [3]
Bact. filefaciens	50 „	„	„	„ „	—	—	0,3192	0,0056	—	0,3248	θ	1,6880	13,87 [4]
Bact. nitrovorum	50 „	„	„	„ „	θ	0,0096	0,3192	0,0056	—	0,3248	—	1,5640	20,2 [5]
Bac. denitrificans	50 „	„	sehr schwach	„ „	0,01232	0,0106	0,3024	0,01008	—	0,3248	—	1,8260	6,83 [6]
Proteus Zenkeri	48 „	„	„ „	„ „	0,00728	0,0061	0,3192	0,00784	—	0,33432	+ 2,92	1,9226	1,90 [7]
Bac. mesenter. vulgatus	46 „	„	sehr stark	„ „	0,0112	0,0196	0,2912	0,0246	—	0,3270	+ 0,68	Spuren	100 [8]
Bac. ramos. n. liquefac.	50 „	„	sehr schwach	„ „	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	1,396	28,77 [9]
Bac. mycoides	43 „	„	„ „	„ „	0,0062	0,00896	0,3136	0,0088	—	0,3286	+ 1,17	1,960	θ [9]
Bac. subtilis	45 „	schw. alkal	sehr stark	„ „	0,03976	0,0532	0,2464	0,03864	—	0,3248	θ	Spuren	100 [10]
Bac. typhi abdominalis	50 „	neutral	stark	„ „	0,00448	0,00448	0,3024	0,01792	—	0,3248	θ	1,850	5,61 [11]
Clostridium gelatinos.	46 „	schw. alkal.	sehr stark	„ „	0,1512	0,1568	0,1568	0,0168	—	0,3248	θ	Spuren	100 [12]
Bac. prodigiosus	45 „	neutral	„ „	„ „	0,0134	0,0168	0,2912	0,0224	—	0,3270	+ 0,68	1,196	38,97 [13]
Kontrolkolben	—	„	—	—	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	1,960	— [14]

Anmerkungen. 1) Lösung stark getrübt; die Kultur in Klumpen. 2) Lösung stark getrübt, grün fluoreszierend. 3) Kolbeninhalt nur schwach getrübt. 4) Kolbeninhalt sehr schwach getrübt. 5) Lösung schwach getrübt. 6) Kolbeninhalt einigermaßen getrübt. 7) Lösung blieb vollkommen klar. 8) Lösung im Kolben getrübt. 9) Kolbeninhalt ungetrübt. 10) Kolbeninhalt sehr stark getrübt. 11) Lösung fast klar. 12) Kultur im Kolben stark entwickelt. 13) Lösung im Kolben stark getrübt. 14) Kolbeninhalt blieb steril.

Tabelle V. Xylose.

Mikrobenart	Dauer des Versuchs	Reaktion nach dem Versuche	Reaktion der Lösung auf		Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatiert. Stickstoffs	Unterschied in Proz.	Xylose	
			Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destill. m. MgO	NH_3 durch Destill. NaOH	Nitrat. u. Nitriten	organ. Stickstoff in der Lösung	organ. Stickstoff i.d.entst. Kultur			konstatierte	Verlust
					g	g	g	g	g	g		g	Proz.
Bact. Hartlebi	50 Tage*)	schwach alkalisch	schwach	sehr schwach	0,00168	0,0056	0,0280	0,01256	0,0118	0,0540	— 83,38	Spuren	100 1)
Bac. fluorescens liquefaciens	50 „	„ „	stark	stark	0,00336	0,0252	0,2912	0,03024	—	0,3248	θ	„	100 2)
Bact. Stutzeri	50 „	neutral	schwach	sehr stark	0,00448	0,00756	0,3136	0,0070	—	0,32508	—	0,9920	10,58 3)
Bact. filefaciens	50 „	„	„	„ „	0,00728	0,01232	0,3136	0,0084	—	0,32928	+ 1,38	0,864	22,12 4)
Bact. centropunctatum	50 „	„	„	„ „	0,00896	0,01288	0,30688	0,00896	—	0,3248	θ	0,9254	16,58 5)
Bact. nitrovorum	50 „	„	„	„ „	0,00616	0,01232	0,3136	0,0126	—	0,33236	+ 2,32	0,9146	17,55 6)
Bac. denitrificans	50 „	„	sehr schwach	„ „	0,00672	0,00952	0,3136	0,00448	—	0,3248	θ	0,9146	17,55 6)
Bact. coli commune	50 „	schw. alkal.	sehr stark	„ „	0,00728	0,01288	0,2998	0,01772	—	0,3248	θ	Spuren	100 6)
Bac. denitrificans + Bact. coli commune	50 „	„ „	schwach	nicht aufgetreten	0,00730	0,01108	0,0112	0,0301	—	0,0486	— 85,04	—	100 6)
Proteus vulgaris	50 „	„ „	„	sehr stark	0,00392	0,00504	0,3080	0,01288	—	0,3248	θ	0,9254	16,58 7)
Bac. ramosus n. liquefaciens	50 „	neutral	„	„ „	0,00896	0,01668	0,3036	0,01224	—	0,3248	θ	0,9120	17,79 8)
Bac. subtilis	50 „	schw. alkal.	sehr stark	„ „	0,02632	0,0336	0,2800	0,01736	—	0,3237	— 0,34	Spuren	100 9)
Bac. prodigiosus	50 „	neutral.	„ „	„ „	0,0084	0,01064	0,3024	0,01448	—	0,32528	—	0,4940	55,47 10)
Clostridium gelatinosum	50 „	schw. alkal.	„ „	„ „	0,03136	0,03248	0,2716	0,0204	—	0,32336	— 0,44	Spuren	100 10)
Kontrolkolben	—	neutral	—	—	—	—	0,3248	—	—	0,3248	—	1,1094	— 11)

Anmerkungen. 1) Lösung stark getrübt, stark entwickelte Kultur. 2) Kolbeninhalt stark getrübt. 3) Schwache Trübung im Kolben. 4) Kolbeninhalt fast klar. 5) Kolbeninhalt schwach getrübt. 6) Kolbeninhalt stark getrübt. 7) Lösung fast klar. 8) Kolbeninhalt fast klar. 9) Trübung im Kolben. 10) Kolbeninhalt merklich getrübt. 11) Kolbeninhalt steril geblieben.

*) Längere Zeit schwach gegoren.

Tabelle VI. Milchsäure.

Mikrobenart	Dauer des Versuchs	Reaktion der Lösung nach dem Versuche	Reaktion der Lösung auf			Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatiert. Stickstoffs	Unterschied in Proz.
			NH_3	Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destillation mit MgO g	NH_3 durch Destillation mit NaOH g	Nitrat. u. Nitriten g	organ. Stickstoff in der Lösung g	organ. Stickstoff i.d.entst. Kultur g	g	
Bact. Hartlebi	36 Tage, am 8. Tage Beginn der Gärung	schwach alkalisch	trat nicht auf	trat nicht auf	trat nicht auf	—	—	—	0,0448	—	0,0448	— 86,21 [1])
Bac. fluoresc. liquef.	36 Tage, am 8. Tage Beginn der Gärung	„ „	merklich	stark	schwach	0,0224	—	0,0280	0,0280	—	0,0784	— 75,86 [2])
Bac. pyocyaneum	36 Tage, am 8. Tage Beginn der Gärung	„ „	trat nicht auf	trat nicht auf	trat nicht auf	—	—	—	0,0392	—	0,0392	— 87,93 [3])
Bact. Stutzeri	37 Tage, am 8. Tage Beginn der Gärung	„ „	in Spuren	„ „ „	„ „ „	0,0168	—	—	0,0504	—	0,0672	— 79,31 [4])
Bact. filefaciens	33 Tage, am 8. Tage Beginn der Gärung	„ „	trat nicht auf	„ „ „	„ „ „	—	—	—	0,0560	—	0,0560	— 82,76 [4])
Bact. centropunctatum	36 Tage, am 7. Tage schwache Gärung	„ „	merklich	sehr schwach	Spuren	0,0112	—	0,0392	0,0448	—	0,0952	— 70,69 [5])
Bact. nitrovorum	30 Tage, am 8. Tage Beginn der Gärung	„ „	„	trat nicht auf	trat nicht auf	0,0280	—	—	0,0392	—	0,0672	— 79,31 [6])
Bac. denitrificans	37 Tage	„ „	trat nicht auf	„ „ „	sehr stark	—	—	0,3248	—	—	0,3248	θ [7])
Bact. coli commune	32 „	„ „	merklich	sehr stark	„ „	0,0280	0,0448	0,2464	0,0448	—	0,3192	— 1,72 [8])
Bact. denitrificans + Bact. coli commune	36 „	„ „	trat nicht auf	trat nicht auf	trat nicht auf	—	—	—	0,0280	—	0,0280	— 91,38 [9])
Proteus vulgaris	30 „	„ „	„ „ „	sehr stark	sehr stark	—	—	0,2912	0,0336	—	0,3248	θ [10])
Proteus Zenkeri	36 „	„ „	ganz deutlich	„ „	„ „	0,0224	—	0,2856	0,0168	—	0,3248	θ [10])
Bac. mesenter. vulgat.	33 „	„ „	trat nicht auf	„ „	„ „	θ	θ	0,3136	0,0112	—	0,3248	θ [10])
Bac. ramosus n. liquef.	34 „	„ „	stark	„ „	„ „	0,0784	0,084	0,2296	0,0168	—	0,3248	θ [10])
Bac. mycoides	40 „	„ „	trat nicht auf	trat nicht auf	„ „	—	—	0,3248	—	—	0,3248	θ [11])
Bac. subtilis	40 „	„ „	merklich	sehr stark	„ „	0,0224	0,0336	0,2800	00,224	—	0,3248	θ [12])
Bac. megatherium	40 „	„ „	„	„ „	„ „	0,028	0,0336	0,2576	0,0392	—	0,3248	θ [13])
Bac. typhi abdominalis	37 „	„ „	trat nicht auf	Spuren	„ „	—	—	0,3248	—	—	0,3248	θ [14])

Anmerkungen. 1) Lösung stark getrübt. 2) Lösung stark getrübt, grünlich fluoreszierend, dann braun werdend. 3) Lösung stark getrübt. grün fluoreszierend. 4) Lösung stark getrübt. 5) Lösung getrübt. 6) Lösung getrübt, ölartig. 7) Lösung vollkommen klar, Virulenz erhalten, 8) Lösung stark getrübt. 9) Kolbeninhalt merklich getrübt. 10) Kolbeninhalt stark getrübt. 11) Lösung fast klar geblieben. 12) Lösung getrübt. 13) Lösung stark getrübt. 14) Lösung klar geblieben.

Tabelle VII. Valeriansäure.

Mikrobenart	Dauer des Versuchs	Reaktion der Lösung nach dem Versuche	Reaktion der Lösung auf			Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatierten Stickstoffs	Unterschied in Proz.
			NH₃	Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destillat. mit MgO	NH_3 durch Destillat. mit NaOH	Nitrat. u. Nitriten	organ. Stickstoff in der Lösg.	organ. Stickstoff i.d.entst. Kultur		
						g	g	g	g	g	g	
Bact. Hartlebi	36 Tage *)	schwach alkalisch	trat nicht auf	trat nicht auf	trat nicht auf	—	—	—	0,0280	—	0,0280	— 91,38 [1])
Bac. fluoresc. liquefac.	30 „ *)	„	in Spuren	„	„	0,0168	—	—	0,0420	—	0,0588	— 81,89 [2])
Bact. pyocyaneum	34 „ *)	„	trat nicht auf	„	„	—	—	—	0,0448	—	0,0448	— 86,21 [3])
Bact. Stutzeri	36 „ *)	„	„	„	„	—	—	—	0,0448	—	0,0448	— 86,21 [3])
Bact. filefaciens	30 Tage; durch 3 Tage kräftige Gärung	„	„	trat nicht auf	trat nicht auf	—	—	—	0,0448	—	0,0448	— 86,21 [4])
Bact. centropunctatum	36 Tage, a. 3.Tg. schwache Gär.	„	„	„	„	—	—	—	0,0336	—	0,0336	— 89,65 [5])
Bact. nitrovorum	38 Tg.; a. 3.Tg. Beginn d. Gär.	„	„	„	„	—	—	—	0,0392	—	0,0392	— 87,93 [6])
Bac. denitrificans	36 Tage	„	„	sehr schwach	sehr stark	θ	θ	0,3080	0,0168	—	0,3248	θ [6])
Bact. coli commune	40 „	„	„	sehr stark	„	0,0112	0,0168	0,2968	0,0168	—	0,3248	θ [7])
Proteus vulgaris	40 „	„	„	stark	„	—	0,0056	0,3136	0,0112	—	0,3248	θ [8])
Proteus Zenkeri	34 „	„	„	sehr stark	„	0,0056	0,0112	0,3080	0,0112	—	0,3248	θ [9])
Bac. mesenter. vulgatus	36 „	„	„	schwach	„	—	0,0056	0,3136	0,0112	—	0,3248	θ [10])
Bac. ramos. n. liquefac.	36 „	„	„	„	„	θ	θ	0,3080	0,0168	—	0,3248	θ [10])
Bac. mycoides	38 „	„	„	sehr stark	„	θ	θ	0,2968	0,0224	—	0,3192	— 1,72 [11])
Bac. subtilis	36 „	„	„	„	„	0,0056	0,0056	0,3024	0,0224	—	0,3304	+ 1,72 [11])
Bac. megatherium	36 „	„	merklich	„	„	0,0336	0,0336	0,2464	0,0448	—	0,3248	θ [12])
Bac. typhi abdominalis	38 „	„	trat nicht auf	„	„	0,0112	0,0112	0,2968	0,0168	—	0,3248	θ [12])

Anmerkungen. 1) Entwickelte Kultur. 2) Inhalt des Kolbens stark getrübt, fluoreszierend, dann braun werdend. 3) Lösung stark getrübt; Kultur entwickelt. 4) Lösung stark getrübt. 5) Lösung stark getrübt; Kultur entwickelt. 6) Lösung schwach getrübt. 7) Lösung getrübt. 8) Lösung einigermaßen getrübt. 9) Lösung ziemlich stark getrübt. 10) Lösung etwas getrübt. 11) Lösung merklich getrübt. 12) Lösung stark getrübt.

*) Am 3. Tage Beginn der Gärung.

Tabelle VIII. Bernsteinsäure.

Mikrobenart	Dauer des Versuchs	Reaktion nach dem Versuche	Reaktion der Lösung auf			Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatierten Stickstoffs	Unterschied in Proz.
			NH_3	Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destill. mit		Nitrit. u. Nitraten	organischem Stickstoff			
						MgO	NaOH		in der Lösg.	i.d.entst. Kultur		
						g	g	g	g	g	g	
Bact. Hartlebi	36 Tage, am 6 T. stark. Gär.	schwach alkalisch	trat nicht auf	trat nicht auf	trat nicht auf	—	—	—	0,0280	0,0126	0,0406	— 87,50 [1]
Bac. fluoresc. liquef.	36 Tage, am 3 T. stark. Gär.	„ „	schwach	bedeutend	schwach	0,0168	0,0200	0,0392	0,0336	—	0,0896	— 72,41 [2]
Bact. pyocyaneum	37 Tage, am 2 T. stark. Gär.	„ „	trat nicht auf	trat nicht auf	trat nicht auf	—	—	—	0,0392	—	0,0392	— 87,93 [3]
Bact. Stutzeri	35 Tage, am 4 T. stark. Gär.	„ „	in Spuren	in Spuren	„ „ „	0,0112	0,0152	—	0,0392	—	0,0504	— 84,48 [4]
Bact. filefaciens	35 Tage, am 4 T. stark. Gär.	„ „	trat nicht auf	trat nicht auf	„ „ „	—	—	—	0,0504	—	0,0504	— 84,48 [4]
Bact. centropunctatum	35 Tage, am 4 T. stark. Gär.	„ „	„ „ „	„ „ „	„ „ „	—	—	—	0,0336	—	0,0336	— 89,65 [4]
Bact. nitrovorum	35 Tage, am 4 T. stark. Gär.	„ „	„ „ „	„ „ „	„ „ „	—	—	—	0,0280	—	0,0280	— 91,38 [4]
Bact. coli commune	30 Tage	„ „	„ „ „	stark	sehr stark	—	—	0,3248	—	—	0,3248	θ [5]
Bac. denitrif. + Bact. coli commune	36 Tage langs. Gär.	„ „	„ „ „	trat nicht auf	trat nicht auf	—	—	—	0,0308	—	0,0308	— 90,51 [6]
Proteus vulgaris	40 Tage	„ „	„ „ „	sehr stark	sehr stark	θ	θ	0,2856	0,0280	0,0042	0,3178	— 2,15 [7]
Proteus Zenkeri	34 Tage	„ „	„ „ „	stark	„ „	θ	θ	0,3248	θ	—	0,3248	θ [8]
Bact. mesent. vulgatus	30 Tage	„ „	stark	sehr stark	„ „	0,0252	0,030	0,2604	0,0392	—	0,3248	θ [9]
Bac. ramos. n. liquefac.	36 Tage	„ „	trat nicht auf	„ „	stark	θ	θ	0,2904	0,0280	—	0,3184	1,97 [10]
Bac. mycoides	36 Tage	„ „	„ „ „	in Spuren	sehr stark	θ	θ	0,3080	0,0140	—	0,3220	— 0,86 [11]
Bac. subtilis	30 Tage	, „	sehr schwach	stark	stark	0,0112	0,0142	0,2968	0,0112	—	0,3192	— 1,72 [12]
Bac. megatherium	36 Tage	„ „	merklich	sehr stark	„	0,0336	0,0356	0,2744	0,0136	—	0,3248	θ [13]

Anmerkungen. 1) Stark getrübt, Kultur zusammenhängend entwickelt. 2) Lösung stark getrübt. 3) Lösung stark getrübt, ölartig grünlich fluoreszierend. 4) Lösung stark getrübt. 5) Kolbeninhalt klar. 6) Kolbeninhalt stark getrübt. 7) Kolbeninhalt getrübt. 8) Lösung unbedeutend getrübt. 9) Lösung merklich getrübt. 10) Lösung schwach getrübt. 11) Lösung nur schwach getrübt. 12) Lösung getrübt. 13) Lösung stark getrübt.

Tabelle IX.

Clostridium gelatinosum	Dauer des Versuchs	Reaktion der Lösung nach dem Versuche	Reaktion auf		Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatierten Stickstoffs	Unterschied in Proz.	Saccharose	
			Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destill. mit MgO	NH_3 durch Destill. mit NaOH	Nitriten und Nitraten	organischem Stickstoff in der Lösung	organischem Stickstoff in der entst. Kultur			gefunden	Verlust in Proz.
					g	g	g	g		g		g	
Kontrolkolben (blind)	—	—	—	—	—	—	0,3192	—	—	0,3192	θ	5,0588	θ [1])
Die Versuche wurden im Fernbachschen Kolben durchgeführt. In 500 ccm Lösung waren enthalten: 5 g Saccharose, 2 g $NaNO_3$, 2 g $CaCO_3$, 50 ccm anorganischen Nährstoffs.	14. Okt. 1901 bis 15. Jan. 1902	alkalisch	sehr stark	schwach	0,0868	0,1030	0,0470	0,0756	—	0,2094	—34,39	θ	100
	14. Okt. 1901 bis 18. Jan. 1902	„	„	„	0,0818	0,1148	0,0431	0,0857	—	0,2106	—34,02	θ	100
1/10 Molekulargewicht Saccharose 34,2 g 1/10 Molekulargewicht $NaNO_3$ 8,5 g 100 ccm anorg. Nährstoffs in 1000 ccm Wasser	20. Nov. 1901 bis 16. Jan. 1902	„	„	sehr stark	0,3584 nach Bosshard	0,41216	0,7504	—	—	—	—	—	— [2])
Derselbe Versuch	20. Nov. 1901 bis 22. Jan. 1902	„	„	„	0,3976 nach Bosshard	0,42896	0,7616	0,14224	—	1,30144	—	—	—

Anmerkungen. 1) Der Kolbeninhalt blieb steril. 2) Alkalisch 40 ccm $\frac{n}{10}$ H_2SO_4 auf die ursprüngliche Menge.

Tabelle X.

Bact. Hartlebi.	Dauer des Versuchs	Reaktion der Lösung nach dem Versuche	Reaktion der Lösung auf			Stickstoff konstatiert in Form von					Gesamtsumme des konstatierten Stickstoffs	Unter-schied in Proz.	Anmerkungen
			Ammo-niak	Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destill. mit		Nitriten und Nitraten	organischem Stickstoff				
						MgO g	NaOH g	g	in der Lösg. g	in der entst. Kultur	g		
In Apfelsäure 2 g Apfelsäure, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs in 1000 ccm Wasser	27. Febr. bis 12. April 1902 schwache Gärung	alka-lisch	schwach	schwach	schwach	0,0112	0,0168	0,01008	0,0224	—	0,1400	— 56,89	Kolbeninhalt stark getrübt; die Kultur klumpenartig.
In Weinsäure 2 g Weinsäure, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs in 1000 ccm Wasser	27. Febr. bis 15. April 1902 sehr schwache Gärung	"	"	"	stark	0,0056	0,0112	0,1680	0,0336	—	0,2072	— 36,2	Kolbeninhalt nur schwach getrübt, die Kultur in Form einer „Haut" am Boden.

Tabelle XI.

Bact. Hartlebi		Dauer des Versuchs	Reaktion der Lösung nach dem Versuche	Reaktion auf		Stickstoff bestimmt in Form von				Gesamtsumme des konstatiert. Stickstoffs	Unterschied in Proz.	Kohlenhydrat		Anmerkungen
				Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destill. mit NaOH	Nitriten und Nitraten	organ. Stickstoff				konstat. Menge	Verlust in Proz.	
								in der Lös.	i.d.entst. Kultur					
						g	g	g	g	g		g		
I. 2 g Glukose, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs	in 1000 ccm Wasser	23.—29. Mai 1901. 25. Mai: beginnt schwach zu gären	neutral	trat nicht auf	schwach	0,0112	0,0448	0,0336	—	0,0896	—72,41	—	100	Die Analyse wurde nach 6 Tagen durchgeführt. Die Kultur klumpenartig
II. 2 g Lävulose, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs	dto.	26. Mai bis 1. Juni 1901. 29. Mai: beginnt zu gären	schwach alkalisch	stark	stark	0,0084	0,0924	0,0336	—	0,1344	—58,62	—	100	dto.
III. 2 g Galaktose, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs	dto.	26. Mai bis 1. Juni 1901. 29. Mai: beginnt schwach zu gären	dto.	dto.	dto.	0,0112	0,0420	0,0392	—	0,0924	—71,55	—	100	dto.
IV. 2 g Arabinose, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs	dto.	17.—26. Juni 1901. 20. Juni: gärt stark	dto.	trat nicht auf	dto.	0,0112	0,1176	0,0336	—	0,1624	—50,—	Der Zucker wurde nicht bestimmt	—	Die Analyse wurde nach 9 Tagen durchgeführt; die Kultur zusammenhängend entwickelt
V. 2 g Xylose, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs	dto.	20.—29. Juni 1901. 23. Juni: gärt	dto.	merklich	dto.	0,0168	0,0420	0,0392	—	0,0980	—69,82		—	Die Analyse wurde nach 9 Tagen durchgeführt; die Kultur nur schwach entwickelt
VI. 2 g Saccharose, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs	dto.	23.—29. Mai 1901. 25. Mai: gärt	neutral	trat nicht auf	Spuren	—	Spuren	0,0504	—	0,0504	—84,48		—	Die Analyse wurde nach 6 Tagen durchgeführt.
VII. 2 g Laktose, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs	dto.	16.—26. Juni 1901. 20. Juni: gärt	schwach alkalisch	merklich	schwach	0,0112	0,0168	0,0336	0,0126	0,0742	—77,15		—	Kultur stark angewachsen

Tabelle XII.

Bact. Hartlebi	Dauer des Versuchs	Reaktion der Lösung nach dem Versuche	Reaktion auf		Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatiert. Stickstoffs	Unterschied in Proz.	Saccharose		Anmerkungen
			Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destillat. mit		Nitrit. u. Nitraten	organ. Stickstoff				Gesamtsumme	Verlust in Proz.	
					MgO g	NaOH g	g	in der Lösg. g	i.d.entst. Kultur g	g		g		
2 g Glukose, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs } 1000 ccm Wasser. Durch den Kolben wurde steril. Luft durch 9 Tage gesogen	27. März bis 5. April 1902 30. März schw. Gärung	schwach alkalisch	stark	sehr stark	0,0224	—	0,1680	0,0392	—	0,2296	—29,31	0	100	
Durch den Kolben wurde täglich steril. Luft hindurchgetrieben	31. Dez. 1901 bis 6. Febr. 1902 langsame Gärung	dto.	sehr schwach	stark	0,0112	0,0140	0,1288	0,0364	—	0,1764	—45,69	0	100	Versuche in breiten Gefäßen, welche enthielten: 2 g Glukose, 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährst. in 1000 ccm Wasser. Im Verlaufe einer Woche begann die Gärung. Die Kultur stark entwickelt
Durch den Kolben wurde keine Luft getrieben	31. Dez. 1901 bis 6. Febr. 1902	dto.	dto.	dto.	0,0056	0,0112	0,1288	0,0504	—	0,1848	—43,1	0	100	
Versuche in breiten Gefäßen, welche enthielten: 100 g Sacchar., 0,6 g Asparag., 2 g $NaNO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs } 1000 ccm Wasser	18. Mai bis 23. Juli 1902 schwache und langsame Gärung	neutral	trat nicht auf	trat nicht auf	0,1624	—	—	0,12980	—	0,2912	—	—	—	24. Mai: Verbunden mit einem Saugapparat

Tabelle XIII.

Bact. Hartlebi	Dauer des Versuchs	Reaktion der Lösung nach dem Versuche	Reaktion auf		Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatierten Stickstoffs	Unterschied in Proz.	Saccharose		Anmerkungen
			Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destill. mit		Nitrit. und Nitrat.	organischem Stickstoff				Gesamtsumme	Verlust in Proz.	
					MgO g	NaOH g	g	in der Lösg. g	in der entst. Kultur	g		g		
I. 2 g Saccharose, 1 g $(NH_4)NO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs in 1000 ccm Wasser	18. Jan. bis 16. Febr. 1901 18. Jan. beginnt zu gären	alkalisch	trat nicht auf	trat nicht auf	0,112	0,1232	θ	0,0616	—	0,1736	— 50,—	—	—	Kolbeninhalt stark getrübt, die Kultur am Boden in Form von Klumpen.
II. 2 g Saccharose, 2 g $(NH_4)NO_3$, 100 ccm anorg. Stickstoffs in 1000 ccm Wasser	17. Jan. bis 22. Febr. 1901 18. Jan. beginnt zu gären	alkalisch	trat nicht auf	trat nicht auf	0,2800	0,2856	θ	0,0560	—	0,3360	— 51,61	—	—	Die Lösung stark getrübt, die Kultur am Boden stark entwickelt.
III. 2 g Saccharose, 2 g $(NH_4)NO_3$, 100 ccm anorg. Nährstoffs in 1000 ccm Wasser	blind	alkalisch	—	—	0,1736	0,1736	0,1736	—	—	0,3472	—	—	—	Als Kontrolkolben. Kolbeninhalt blieb steril.

Tabelle XIV.

Bact. Hartlebi und Clostridium gelatinosum	Dauer des Versuchs	Reaktion der Lösung nach dem Versuche	Reaktion auf		Stickstoff bestimmt in Form von					Gesamtsumme des konstatiert. Stickstoffs	Unterschied in Proz.	Saccharose		Anmerkungen
			Nitrite	Nitrate	NH_3 durch Destillat. mit		Nitrit. u. Nitraten	organ. Stickstoff				gefunden	Verlust in Proz.	
					MgO g	NaOH g	g	in der Lösg. g	i.d.entst. Kultur g	g		g		
Clostridium gelatinos. geimpft Bact. Hartlebi	4. September bis 3. Dezember 1901 20. September bis 3. Dezember 1901 21. Septbr. schw. Gärungsbeginn	alkalisch	deutlich	sehr schwach	0,0734	0,0852	0,0028	0,0470	—	0,1232	−61,4	θ	100	Bact. Hartlebi wurde 16 Tage nach erfolgter Impfung mit Clostrid. gelat. zugeimpft
dto.	4. September bis 7. Dezember 1901 20. September bis 7. Dezember 1901 21. Septbr. schon schwache Gärung	dto.	Spuren	trat nicht auf	0,0717	0,08512	θ	0,0454	—	0,1171	−63,31	θ	100	dto.
dto.	20. September bis 8. Dezember 1901 21. September beginnt schwache Gärung	dto.	dto.	dto.	0,0059	—	θ	0,0350	—	0,0409	−87,23	θ	100	Mit beiden Bacillenarten gleichzeitig geimpft
Kontrolkolben (blind)	—	—	—	—	—	—	0,3192	—	--	0,3192	—	5,0588	—	Kolbeninhalt blieb steril

Die Versuche wurden im Fernbachschen Kolben durchgeführt. In 500 ccm Lösung waren enthalten: 5 g Saccharose, 2 g $NaNO_3$, 2 g $CaCO_3$, 50 ccm anorg. Nährstoffs

Tabelle XV.

Bact. Hartlebi	Dauer des Versuchs		Menge des Stickstoffs in Form von Amido-stickstoff g	Diamino-stickstoff g	Monamino-stickstoff g	Gesamtsumme des Stickstoffs g	Anmerkungen
In 1000 ccm Wasser waren: 1/10 Molekulargewicht Xylose (15 g), 1/10 „ $NaNO_3$ (8,5 g)	20. Dez. 1902 bis 19. Febr. 1903	in der Kultur	0,0042	0,0334	0,02352	0,06112	Die Lösung hatte eben die Gärung beendet
		in der Lösung	0,01008	0,01008	0,03248	0,05264	
In 1000 ccm Wasser waren: 1/10 Molekulargewicht Glukose (18 g), 1/10 „ $NaNO_3$ (8,5 g)	20. Dez. 1902 bis 19. Jan. 1903	in der Kultur	0,00392	0,01372	0,02002	0,03766	
		in der Lösung	0,01288	0,01288	0,02800	0,05376	
dto.	20. Dez. 1902 bis 18. Jan. 1903	in der Kultur	0,00378	0,0119	0,02072	0,0364	
		in der Lösung	0,01176	0,01792	0,03024	0,05992	
In 1000 ccm Wasser waren: 1/10 Molekulargewicht Saccharose (34,2 g), 1/10 „ $NaNO_3$ (8,5)	20. Dez. 1902 bis 13. Jan. 1903	in der Kultur	0,00462	0,0223	0,04032	0,06724	Die Lösung war im Begriffe, die Gärung zu beenden, enthielt noch Spuren von Nitriten und Nitraten
		in der Lösung	0,02296	0,02352	0,05096	0,09744	
dto.	20. Dez. 1902 bis 20. Jan. 1903	in der Kultur	0,00476	0,01694	0,02996	0,05166	
		in der Lösung	0,0308	0,03024	—	—	

Der Kampf ums Dasein und die Mixtkulturen.

Von **N. Gaidukov,**
Privatdozent der Botanik an der Universität Kiew.

Bekanntlich ist die Methode der Mixtkulturen von großer Wichtigkeit[1]). Ganz unentbehrlich ist sie jedoch bei der Lösung der Frage über den Einfluß äußerer Bedingungen auf den Kampf ums Dasein verschiedener Organismen. Mit Hilfe der Mixtkulturen und des in diesen Kulturen entstandenen Kampfes ums Dasein gelingt es mir sogar, zwei Arten von Oscillarien gut zu unterscheiden, die sehr oft als eine einzige Art betrachtet werden, nämlich als Oscillaria sancta Kütz.

Für meine Versuche über den Einfluß des farbigen Lichtes auf die Färbung der Oscillarien wählte ich O. sancta, die ich aus Gewächshäusern des alten Botanischen Gartens in Berlin in genügender Menge erhielt. Sie bedeckte hier in violettem Lager die Erde vieler Blumentöpfe. Es wurde solche Erde abgenommen und in Porzellantellern mit etwas Leitungswasser naß gehalten. Nach einigen Tagen Stehens bei gewöhnlicher Beleuchtung häuften sich die Fäden in der oberen Schicht an und krochen auch in großer Menge nach dem trockenen Rande des Tellers. Die neugebildeten Lager bestanden teils aus violetten, teils aus blaugrünen Fäden. Letztere bildeten meist durch Zusammenhalten hautartige Schichten. Morphologisch stimmten die bis 20 μ dicken, violetten Fäden mit O. sancta var. aequinoctialis Gomont überein. Die Färbung variierte von nahezu reinem Violett bis Purpurviolett und Braun- oder Grauviolett. Die blaugrünen, nur bis 14 μ dicken Fäden stimmten in ihren Eigenschaften am meisten mit O. sancta var. caldariorum Gomont [Hauck] [2]) überein.

Im Laufe einiger Wochen verschwanden auf einigen Tellern fast alle blaugrünen, auf anderen fast alle violetten Fäden, so daß man schließlich fast reine Kulturen von der einen oder der anderen Färbung erhielt. Nach 3—4 Wochen pflegten diese Kulturen das Maximum der Entwickelung erreicht zu haben; die Fäden bildeten dann dicke, die Oberfläche überziehende Lager. Aus diesen Kulturen wurde eine Zahl Fäden in Petri-Schalen auf Erde mit Leitungswasser oder auf Agaragar

---

1) Vergl. z. B. G. Nadson, Des cultures de Dictyostelium mucoroides etc. (Scripta botanica Horti Univers. Petropolit. Fasc. XV. 1899.)

2) Siehe Gaidukov, Ueber den Einfluß farbigen Lichts auf die Färbung lebender Oscillarien. (Anh. z. d. Abhandl. königl. preuß. Akadem. Wissenschaft. Berlin 1902.) — Derselbe, Weitere Untersuchungen über den Einfluß farbigen Lichts auf die Färbung der Oscillarien. (Ber. d. Deutschen botan. Gesellsch. Bd. XXI. 1903.) — Derselbe, Die Farbenveränderung bei den Prozessen der komplementären chromatischen Adaptation. (Ibid.) — Derselbe, Ueber den Einfluß farbigen Lichts auf die Färbung der Oscillarien. (Scripta botanica Horti Universit. Petropolit. Fasc. XXII. 1903.) — Derselbe, Die Farbe der Algen und des Wassers. (Hedwigia. Bd. XLIII. 1904.) — Engelmann, Th. W., Ueber experimentelle Erzeugung zweckmäßiger Aenderung der Färbung pflanzlicher Chromophylle durch farbiges Licht. Bericht über Versuche von N. Gaidukov. (Arch. f. Anatom. u. Physiolog. Physiolog. Abt. 1902.) — Derselbe, Ueber die Vererbung künstlich erzeugter Farbenänderungen von Oscillarien, nach dem Versuche von N. Gaidukov. (Verhandl. d. Physiolog. Gesellsch. Berlin 1902—1903. No. 2.)

3) Gomont, Monographie des Oscillariées. (Ann. sc. natur. 7e sér. Botan T. XVI. 1892. p. 146.)

mit 0,3 Proz. Knopscher Lösung übertragen. Auf Agaragar fand die Entwickelung langsamer statt, hielt aber länger an. Durch wiederholtes Uebertragen auf frisches Agaragar konnten nahezu reine Kulturen der violetten wie auch der blaugrünen Formen anscheinend unbegrenzt lange erhalten werden.

Aus oben Gesagtem folgt, daß unter anscheinend denselben Bedingungen in dem einen Falle die violette, im anderen die blaugrüne Form siegt. Beide sind auch nach ihrem Habitus gut zu unterscheiden. Ich bezeichne die violette Form als O. sancta Kütz f. violacea mihi und die blaugrüne als O. caldariorum Hauck f. viridis mihi.

Die Petri-Schalen mit den beiden genannten Nährböden, auf welche die Fäden aus möglichst reinen Kulturen auf Porzellantellern übertragen wurden, wurden hinter die Lichtfilter gestellt. Alle Kulturen befanden sich in einem großen, hellen, weißgestrichenen Zimmer im 2. Stock des Physiologischen Instituts, auf einem Tische, welcher von dem nach Süden gerichteten, etwa 1 m entfernten großen Fenster genügendes Tages- und gelegentlich direktes Sonnenlicht erhielt.

Im Laufe des Juni bis August 1900 wurden Kulturen im gewöhnlichen (weißen) Licht und vom November bis Oktober 1901/1902 ebensolche im gewöhnlichen und farbigen Lichte wiederholt gezogen, und zwar fast immer mit demselben Erfolge. Im weißen Lichte siegte öfters O. sancta, jedoch prävalierte O. caldariorum vom Februar bis Mai. Auf der Kulturerde mit Leitungswasser gingen die Oscillarien ungefähr nach 2 Monaten zu Grunde. Auf Agaragar jedoch hielten sie sich, wie schon oben gesagt, anscheinend unbegrenzt lange. In den Gewächshäusern (Kolonial- und Orchideenhaus), wo diese Oscillarien wuchsen, ist die Temperatur sehr hoch, doch entwickeln sich dieselben auch in der gewöhnlichen Zimmertemperatur zu allen Jahreszeiten ganz gut.

Die Tatsache, daß bei denselben äußeren Bedingungen in dem einen Falle eine Art, im anderen Falle die andere Art siegt, ist dadurch zu erklären, daß möglicherweise die in die Kulturen übertragenen Generationen sich schon durch mehr oder minder starke Lebensfähigkeit unterscheiden.

Die Kulturen der beiden Oscillarien im farbigen Lichte (Lichtfilterkulturen) ergaben folgende Resultate: im roten (Karmin) und im gelben (braungelbes Glas) Lichte siegte die blaugrüne O. caldariorum, weil diese Beleuchtung für ihr blaugrünes Chromophyll sehr günstig war. Die ursprünglich violette O. sancta sollte dagegen in dieser Beleuchtung ihr Chromophyll in blaugrünes verändern. Doch nicht direkt, sondern auf dem Umwege über hellviolett, grauviolett, grau, graugrün und graublaugrün. Ganz anders im blauen Lichte (blaues Glas). Hier siegte O. sancta. Ihr violettes Chromophyll veränderte sich direkt in braunes O. caldariorum fehlte dagegen in diesen Kulturen gänzlich. Die Beleuchtungsverhältnisse waren möglicherweise zu ungünstig für ihr blaugrünes Chromophyll. Im Kupferoxydammoniak-Lichte gingen beide Oscillarien zu Grunde. Es scheint, daß dieses Licht zu ungünstig für beide war.

Sehr auffallend waren die Resultate beider Oscillarien bei den Kulturen im grünen Lichte (Kupferchloridlösung). Im Juni 1902 wurde O. caldariorum in Petri-Schalen auf Agaragar übertragen aus Tellerkulturen (Erde mit Leitungswasser), in denen O. sancta fast gänzlich fehlte, erstere aber sehr stark entwickelt war. In diesen Agar-

agarkulturen entwickelte sich im Laufe eines Monats O. sancta, die violett und grau war, ebenso stark wie O. caldariorum. Zwar kann auch die letztere ihre spangrüne Farbe in braungelb und in rot ändern, aber nicht direkt wie O. sancta, sondern auf einem Umwege über graugrün, grau, hellviolett und violett. O. sancta hat also anscheinend in dieser Hinsicht einen großen Vorsprung voraus.

All diese Tatsachen zeigen, daß die Siege der beiden Oscillarien in verschieden gefärbtem Lichte sehr gut durch die Farbe des Chromophylls und die Farbe der Beleuchtung zu erklären sind; d. h. durch das Gesetz der komplementären chromatischen Adaptation. Die der Beleuchtung besser angepaßten, Chromophyll enthaltenden Formen wachsen auch in dieser Beleuchtung besser. Ich habe experimentell nachgewiesen, daß die Algen ihre Farbe in zweckmäßiger, der Kohlenassimilation günstiger Weise verändern können, d. h. in komplementärem Sinne zu der Farbe des einwirkenden Lichtes. Diese Erscheinung wurde von Prof. Engelmann komplementäre chromatische Adaptation genannt. Doch wenn auch die Algen ihre Farbe komplementär verändern können, so spielt doch die günstige Beleuchtung in dem Leben der Algen eine große Rolle. Gewiß, sogar in rein physikalischer Hinsicht ist es für die Algen leichter, ihre Farbe gar nicht oder nur wenig zu verändern, als eine große Aenderung fast durch die ganze Farbenskala, wie ich das beobachtet habe, zu machen. Aus diesem Grunde sehen wir, wie Engelmann[1]) das schon früher bemerkte, die grünen und blaugrünen Formen an der Oberfläche, die roten und die braunen in den Tiefen des Meeres siegen. Das Vorhandensein der roten u. s. w. Algen an der Oberfläche kann man nur durch Vererbung des künstlich erzeugten Chromophylls bei den Algen erklären. Die Vererbung habe ich auch experimentell nachgewiesen.

Das oben Gesagte zeigt, daß bei meinen Versuchen über den Einfluß der verschiedenfarbigen Beleuchtung auf den Kampf ums Dasein verschieden gefärbter Formen die Methode der Mixtkulturen großen Erfolg hatte. Man kann hoffen, daß man solcherweise auch andere Einflüsse, z. B. Temperatur, Ernährung u. s. w., untersuchen kann. Früher machte man die Reinkulturen mit Hilfe des Einflusses verschiedener Faktoren auf verschiedene Organismen. Diese Methode war jedoch nur für praktische Zwecke bestimmt, nämlich zur Erzielung der Reinkulturen. Bei dieser Methode wurde aber die Erscheinung des Kampfes ums Dasein nicht genügend berücksichtigt.

---

1) Engelmann, Th. W., Farbe und Assimilation. (Botan. Zeitschr. 1883; Arch. sc. néerland. T. XIX. 1883.)

Nachdruck verboten.

Rubiaceen bewohnende Puccinien vom Typus der Puccinia Galii.

Von **Theophil Wurth,** Bern.

Mit 14 Figuren.

Einleitung.

Als Puccinia Galii auct. (Syn. Puccinia punctata Link) werden in der Literatur alle auf Asperula- und Galium-Arten vorkommenden Auteupuccinien (Ausnahme Puccinia troglodytes) bezeichnet. Sydow[1]) gibt als Nährpflanzen 9 Asperula- und 23 Galium-Arten an. Fuckel[2]) hielt die Form auf Asperula odorata und A. cynanchica für eine selbständige Art und nannte sie Puccinia Asperulae. Später[3]) wurde diese Art aber wieder mit Puccinia Galii vereinigt. Bubák[4]) erkannte, daß der Form auf Galium Cruciata die Aecidien fehlen und gab dieser Brachypuccinia den Namen Puccinia Celakovskyana.

In der Literatur ist ein einziger Fall bekannt, wo Puccinia Galii durch Kulturversuche auf ihr biologisches Verhalten geprüft wurde. Bubák[5]) infizierte mit Sporenmaterial von Galium silvaticum zwei Galien, G. verum und G. Mollugo, aber ohne positiven Erfolg, woraus er den Schluß zieht: „Demnach ist es sicher, daß auch diese Auteupuccinie einige Anpassungsformen umfaßt“.

Weiter wissen wir über die biologischen Verhältnisse dieser Gruppe nichts.

Es sollte nun durch diese Arbeit im

I. Teil das biologische, im

II. Teil das morphologische Verhalten dieser Pilzgruppe einer Prüfung unterzogen werden.

Bezüglich der Untersuchungsmethoden, Versuchseinrichtungen etc. sei hier, um Wiederholungen zu vermeiden, auf die Arbeiten von Herrn Prof. Ed. Fischer und seiner Schüler verwiesen[6]).

1) Sydow, Monographia Uredinearum. Vol. I. 1904.
2) Fuckel, Symbolae mycologicae 1869.
3) Schroeter, Kryptogamenflora von Schlesien. — Winter in Rabenhorsts Kryptogamenflora. — Sydow, Monographia uredinearum.
4) Bubák, Verh. naturf. Ver. Brünn. Bd. XXXVII. p. 7.
5) Bubák, Centralblatt für Bakteriologie. Abt. II. Bd. XII. No. 11/16.
6) Fischer, Entwickelungsgeschichtliche Untersuchungen über Rostpilze. Bern 1898. — Bandi, Beiträge zur Biologie der Uredineen. Diss. Bern. 1903. — Jordi, Beiträge zur Kenntnis der Papilionaceen-bewohnenden Uromycesarten. Diss. Bern. 1904. — Semadeni, Beiträge zur Kenntnis der Umbelliferen bewohnenden Puccinien. Diss. Bern. 1904.

I. Kapitel. Kulturversuche mit Puccinien vom Typus der Puccinia Galii.

I. Puccinia Celakovskyana Bubák.

Nachdem Bubák nachgewiesen hatte, daß der Puccinia auf Galium Cruciata die Aecidiengeneration fehlt, trennte er diese Form als selbständige Art ab mit der Bezeichnung Puccinia Celakovskyana. Kulturen mit dieser Form sind aber bis jetzt keine gemacht worden. Die nachfolgenden Versuchsreihen sollen uns daher auch mit den biologischen Verhältnissen dieses Pilzes bekannt machen.

Versuchsreihe 1.

Am 16. März 1904 sammelte ich bei Wabern b. Bern Teleutosporenmaterial auf Galium Cruciata. Die Teleutosporen, die also im Freien überwintert hatten, erwiesen sich bei mikroskopischer Untersuchung als ungekeimt und ein Objektträgerversuch ergab reichliche Basidiosporenbildung. Am 7. Mai wurde folgende Reihe eingeleitet:

I 1.	Galium Cruciata,	im Frühling 1903 in der Eymatt b. Bern ausgegraben.
I 2.	Galium Mollugo	im botan. Garten Bern ausgegraben.
I 3.	" "	
I 4.	Galium Aparine,	Samen aus der Umgebung von Bern.
I 5.	Asperula odorata,	im Bremgartenwald b. Bern ausgegraben.
I 6.	Crucianella Molluginoides,	im botan. Garten Bern ausgegraben.

Am 27. Mai waren zahlreiche Blätter von Galium Cruciata dicht mit Pykniden und Uredolagern besetzt. Alle übrigen Versuchspflanzen blieben pilzfrei.

Versuchsreihe 2.

Mit Uredo, der am 2. Juni 1903 bei Muri, Kt. Bern, gesammelt wurde, sind am 3. Juni folgende Pflanzen infiziert worden.

II 1.	Galium Cruciata	gleicher Herkunft wie I 1.
II 2.	" "	
II 3.	Galium Mollugo	" " " I 2 u. 3.
II 4.	" "	
II 5.	Galium Aparine	" " " I 4.
II 6.	" "	
II 7.	" "	
II 8.	Galium silvestre	Sämlinge.
II 9.	" "	
II 10.	Asperula taurina,	aus dem botan. Garten Bern.
II 11.	Asperula odorata	im Bremgartenwald bei Bern ausgegraben.
II 12.	" "	

Am 19. Juni traten auf Galium Cruciata die ersten Uredolager auf. 26. Juni: Auf beiden Galium Cruciata läßt sich eine ungemein reichliche und gleichmäßige Infektion konstatieren. Von den 14 Sprossen von II 1 sind nur drei pilzfrei; zwei der letzteren hatten sich erst nach der Infektion entwickelt. II 2 weist sogar 31 infizierte Sprosse auf; ein einziger, ebenfalls erst später entstandener, trägt keine Sporenlager. Alle übrigen Versuchspflanzen dagegen erweisen sich als gesund.

Versuchsreihe 3.

Ein weiterer Uredoversuch, der am 29. Mai 1903 eingeleitet wurde, ergab Immunität gegenüber Puccinia Celakovskyana auch für

folgende Arten: Galium lucidum, G. aristatum, G. erectum, G. palustre und G. purpureum.

Eine neue Nährpflanze aber für Puccinia Celakovskyana konnte durch folgenden Versuch festgestellt werden:

Versuchsreihe 4.

Eingeleitet am 31. Mai 1904 mit Uredomaterial, das am gleichen Tage im Steinhölzli b. Bern gesammelt wurde.

IV 1. Galium Cruciata } am Gurten bei Bern ausgegraben.
IV 2. „ „
IV 3—8. Galium pedemontanum am 24. Mai 1904 bei Branson, Kt. Wallis, ausgegraben.

Kontrolle am 15. Juni: Beide Galium Cruciata sind spärlich infiziert. Auf 2 Blättern von IV 3 konnte ich 5 Uredolager zählen; IV 6 zeigte 4 Sporenlager; IV 4 u. 7 blieben gesund; IV 5 u. 8 starben bald nach der Infektion ab.

Dieser Versuch beweist also, daß Puccinia Celakovskyana auch auf Galium pedemontanum zu leben vermag. Ob der Pilz auf dieser Nährpflanze schon gefunden wurde, ist mir nicht bekannt. In der Literatur finden sich darüber keine Angaben vor. Auf den Walliser-Exkursionen des botanischen Institutes Bern, wo dem seltenen Galium pedemontanum besondere Aufmerksamkeit geschenkt wurde, ist auf diesem nie eine Uredinee gefunden worden, und so ist es denn nicht undenkbar, daß in unserem Versuch Puccinia Celakovskyana überhaupt zum erstenmal auf Galium pedemontanum übergegangen ist.

Tabelle zu den Infektionsversuchen I—IV. Spezialisation von Puccinia Celakovskyana Bubák.

Versuchspflanzen	Versuchsnummer und Infektionsmaterial			
	I	II	III	IV
	Teleutosporen von Gal. Cruciata	Uredosporen von Gal. Cruciata	Uredosporen von Gal. Cruciata	Uredosporen von Gal. Cruciata
Galium Cruciata	1 +	2 +	2 +	2 +
„ pedemontanum				6 +[1]
„ Mollugo	2 —	2 —	3 —	
„ verum			1 —	
„ silvestre		2 —	2 —	
„ aristatum			1 —	
„ lucidum			1 —	
„ erectum			1 —	
„ palustre			1 —	
„ Aparine	1 —	3 —	4 —	
„ purpureum			1 —	
Asperula odorata	1 —	2 —	2 —	
„ taurina		1 —		
Crucianella Molluginoides	1 —			

NB. + bedeutet positiver, — negativer Erfolg. Die Ziffern vor diesen Zeichen geben die Zahl der verwendeten Töpfe an. Wenn weiter nichts bemerkt ist, weisen jeweils alle Versuchspflanzen + oder — Erfolg auf.

1) 2 Pflanzen gingen zu Grunde, 2 blieben gesund, die beiden übrigen sind befallen.

Ueberblicken wir unsere Versuche, so resultiert daraus folgendes:

1) Puccinia Celakovskyana Bubák auf Galium Cruciata geht auf diese Pflanze, wie auch auf Galium pedemontanum.

2) Nicht befallen wurden Galium Mollugo, G. verum, G. silvestre, G. aristatum, G. lucidum, G. erectum, G. palustre, G. purpureum, G. Aparine, Asperula taurina, Asp. odorata, Crucianella Molluginoides.

Puccinia Celakovskyana ist also in weitgehender Weise spezialisiert und ihre Abtrennung von Puccinia Galii auct., die Bubák auf Grund der fehlenden Aecidiengeneration vornahm, ist auch in biologischer Beziehung gerechtfertigt.

Als eigentliche Nährpflanze dieses Pilzes ist Galium Cruciata zu betrachten.

II. Puccinia Galii auct.

A. Infektionsmaterial von Galium Mollugo.

Versuchsreihe 5.

Das Infektionsmaterial, Teleutosporen auf Galium Mollugo, wurde am 9. April 1904 in der Nähe von Chur, Kt. Graubünden, gesammelt. Diese unter natürlichen Bedingungen überwinterten Teleutosporen entwickelten bei einem Objektträgerversuch zahlreiche keimende Basidiosporen. Am 26. April 1904 wurden infiziert:

V 1. Galium Mollugo, im botan. Garten Bern ausgegraben.
V 2 u. 3. „ silvaticum, im Bremgartenwald bei Bern ausgegraben.
V 4 u. 5. „ Aparine }
V 6. „ rubrum } Sämlinge.
V 7. „ verum }
V 8 u. 9. Asperula odorata, im Bremgartenwald bei Bern ausgegraben.
V 10. Asperula taurina, im botan. Garten Bern ausgegraben.

Kontrolle am 2. Mai: Fast alle Versuchspflanzen haben durch Fäulnis stark gelitten. Am 27. Mai waren Asperula odorata, Galium Mollugo und 1 Galium silvaticum (V 2) abgestorben. Auf dem anderen Gal. silvaticum (V 3) hatten sich mehrere Pykniden entwickelt. 13. Juni: Galium Aparine, G. rubrum, G. verum und Asperula taurina sind gesund. Auf Galium silvaticum haben sich jetzt Aecidien entwickelt. Von diesen scheinen sich nicht alle vollständig öffnen zu können und verglichen mit den Aecidien von Puccinia Galii silvatici Otth auf Galium silvaticum (Versuchsreihen 10 und 11) schienen sie kleiner zu sein als diese. Möglicherweise ist das zurückzuführen auf die kränkelnde Nährpflanze, die nach einigen Wochen ganz einging, ohne daß der Pilz es bis zur Uredo- und Teleutosporenbildung gebracht hätte.

Versuchsreihe 6.

Mit Teleutosporenmaterial gleicher Herkunft wie in Versuchsreihe 5 wurden am 14. Mai 1904 infiziert:

VI 1. Galium Mollugo, im botan. Garten Bern ausgegraben.
VI 2. „ „ }
VI 3. „ verum } Sämlinge.
VI 4. „ silvaticum, im Bremgarten Wald bei Bern ausgegraben.
VI 5. „ Aparine }
VI 6. „ verum } Sämlinge.
VI 7. Asperula cynanchica }
VI 8 u. 9. Asperula odorata, im Bremgartenwald bei Bern ausgegraben.

Die Kontrolle ergab auf

Galium Mollugo am 27. Mai: Sowohl die Sämlinge als auch die eingetopfte Pflanze tragen Pykniden. Am 13. Juni ließen sich auf beiden Versuchspflanzen Pykniden, Aecidien und Uredolager nachweisen.

Galium verum am 27. Mai: Beide Pflanzen besitzen Pykniden. 13. Juni. VI 6 hat zwei Gruppen von Aecidien. Uredo ist nicht nachzuweisen. Auf VI 3 finden sich Pykniden, Aecidien und Uredolager. Ein Stengel, der vorher ringsum dicht mit Pykniden besetzt war, trägt jetzt mehrere Uredohäufchen. Es scheint also, daß hier die Aecidiengeneration übersprungen worden ist, und daß sich am Pyknidenmycel direkt Uredosporen bilden konnten. Eine mikroskopische Untersuchung von befallenen Sprossen von G. Mollugo und G. verum scheint diese Ansicht zu bestätigen, indem festgestellt werden konnte, daß das Mycel zweier Uredolager in direktem Zusammenhang stand mit demjenigen einer Pyknide (Fig. 1). Immerhin ist nicht ausgeschlossen, daß Aecidiosporen, die durch Insekten oder beim Begießen übertragen wurden, jene Uredolager erzeugt haben. Darum möge diese Frage weiter unten diskutiert werden, wo wir einwandfrei nachweisen konnten, daß sich am Pyknidenmycel direkt Uredo zu bilden vermag.

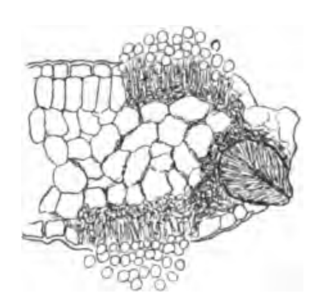


Fig. 1. Querschnitt durch ein Blatt von Galium Mollugo. Das Mycel der Pyknide steht in direktem Zusammenhang mit demjenigen der beiden Uredolager.

Galium Aparine am 27. Mai: Mehrere Blätter zeigen deutliche Pykniden. Einige abgestorbene Flecken neben diesen rühren vermutlich von zu Grunde gegangenen Pykniden her. Eine Durchsicht am 13. Juni bestätigt dies, indem jetzt nur noch kaum erkennbare Reste von Pykniden vorhanden sind, während Flecken von abgestorbenem Blattgewebe ihre frühere Anwesenheit andeuten. Eine andere Sporenform konnte auf dieser Nährpflanze nicht nachgewiesen werden.

Galium silvaticum am 23. Mai: Helle Flecken auf mehreren Blättern lassen vermuten, daß eine Infektion durch die ausgeworfenen Basidiosporen erfolgte, und am 27. Mai sind diese helleren Stellen dicht mit schön entwickelten Pykniden besetzt. Diese sind auf der Unterseite zahlreicher und früher entwickelt. Am 4. Juni fiel mir die außerordentlich starke Tropfenausscheidung der Pykniden auf, während ich bei keiner der drei oben erwähnten Galien eine Ausscheidung von Flüssigkeit durch Pykniden beobachten konnte. Am 13. Juni wurden auf mehreren Blättern Pykniden, Aecidien und Uredolager beobachtet, Auch diese Aecidien scheinen nicht so kräftig entwickelt zu sein wie diejenigen der Puccinia Galii silvatici.

Weiter unten werden wir zeigen, daß Puccinia Galii silvatici Otth nicht auf Galium Mollugo zu leben vermag, und daß dieser Pilz auch morphologisch verschieden ist von der Form auf Galium Mollugo. Umgekehrt aber gelang in Versuchsreihe 6 eine erfolgreiche Infektion von Galium silvaticum durch Teleutosporenmaterial von Galium Mollugo. Wir haben uns diesen Fall wohl so zu denken: Ursprünglich hat diese Puccinie mit gleicher Leichtigkeit sowohl Galium Mollugo als Galium silvaticum befallen und sich auf beiden normal entwickelt. Nach und nach haben sich aber zwei Formen herausgebildet. Die eine ist heute (wahrscheinlich durch

Angewöhnung) so an Galium silvaticum gebunden, daß sie die Fähigkeit vollständig verloren hat, ihre normale Entwickelung auf Galium Mollugo durchzumachen. Die andere vermag aber heute noch beide Galien zu infizieren. Von großem Interesse wäre es nun zu erfahren, ob und in welchem Maße die letztere Form ihre Teleutosporen auf Galium silvaticum verändert. Die Beantwortung dieser Frage, die wir durch das Experiment zu lösen versuchten, fiel leider negativ aus: der Pilz brachte es auf Galium silvaticum nicht bis zur Teleutosporenbildung. Eine Kontrolle am 7. September zeigte, daß diese Nährpflanze dem Pilze nicht zusagt, alle Infektionsstellen sind mit einem braunen Rande von abgestorbenem Blattgewebe umgeben, Uredolager bilden sich nur ganz spärlich und Teleutosporen sind nicht nachzuweisen. Wir haben es hier also mit einer beginnenden Abgewöhnung gewisser Nährpflanzen zu tun. Es ist daher nicht undenkbar, daß in der Folge durch lang andauernde Gewöhnung an Galium Mollugo der Pilz auf Galium silvaticum auch nicht mehr Aecidien und Uredo bilden kann, d. h. daß dann die Spezialisation auch bei dieser Form eine vollständige geworden ist.

Kurz zusammengefaßt hat Infektionsversuch 6 gezeigt:

1) daß Teleutosporen von Galium Mollugo stammend, diese Nährpflanze, sowie auch Galium verum zu infizieren vermögen.

2) Auf Galium silvaticum erzeugt der Parasit Pykniden, Aecidien und Uredo, aber keine Teleutosporen. Es scheint sich hier eine Abgewöhnung anderer Nährpflanzen vorzubereiten.

3) Auf Galium Aparine entstanden nur Pykniden.

4) Völlig gesund blieben Asperula odorata und A. cynanchica.

Im Laufe des Sommers wurden auch zahlreiche Versuche mit Aecidien- und Uredomaterial ausgeführt. Es muß aber von vornherein dazu bemerkt werden, daß diese Versuche für die Immunität einer Pflanze gegenüber der Puccinia auf Galium Mollugo nicht beweisend sind; denn bei allen Infektionsversuchen mit Aecidio- und Uredosporen konnte ich immer nur eine ganz spärliche Infektion erzielen; oft wurde nicht einmal Galium Mollugo befallen. Welcher Faktor daran schuld war, ist mir unbekannt geblieben. Daß es an der Versuchseinrichtung gelegen hat, scheint mir nicht wahrscheinlich; denn einmal wurde immer ganz frisches Infektionsmaterial verwendet und dann wiesen die Versuche mit Puccinia Celakovskyana und Puccinia Galii silvatici, die unter den gleichen Bedingungen ausgeführt wurden, immer sehr reichliche Infektion auf. Andererseits an eine spezifische Eigentümlichkeit der beiden Sporenformen zu denken, geht auch nicht an; denn im Freien finden wir vom Frühjahr bis in den Herbst hinein immer stark von Uredo befallene Galium Mollugo.

Trotzdem seien hier zwei Versuche mit Aecidio- und Uredosporen angeführt, da sie einiges Licht werfen auf das Verhalten der Aecidien. Eine Infektion ausschließlich mit Aecidiosporen ist wohl schwerlich durchzuführen, da mit den Aecidien fast gleichzeitig die Uredolager auftreten.

Versuchsreihe 7.

Das Aecidio- und Uredosporenmaterial auf Galium Mollugo, das am 5. Juni 1904 in der Eymat bei Bern gesammelt wurde, ver-

danke ich der Güte des Herrn cand. phil. W. Rytz. Am 6. Juni wurden damit infiziert:

VII 1. Galium Mollugo } am Gurten bei Bern ausgegraben.
VII 2. „ „ }
VII 3. „ silvaticum, Sämlinge.

Am 23. Juni wies VII 2 ein Uredolager auf und einige Tage später konnte ich auf VII 1 deren 3 zählen. VII 3 blieb auch in der Folge pilzfrei.

Versuchsreihe 8.

In einer Crataegus-Hecke bei Wittigkofen bei Bern sammelte ich am 22. Juni 1904 mit Herrn Rytz, cand. phil., sehr schön entwickelte Aecidien auf Galium Mollugo. Leider war es nicht möglich, für die Infektion ausschließlich Aecidiosporen zu erhalten, da sich neben den Aecidien schon zahlreiche Uredolager entwickelt hatten. Immerhin zeigte eine mikroskopische Prüfung der Infektionsflüssigkeit ein starkes Ueberwiegen der Aecidiosporen. Am 23. Juni wurde die Infektion eingeleitet:

VIII 1. Galium rotundifolium }
VIII 2. „ silvaticum } im Bremgartenwald bei Bern ausgegr.
VIII 3. „ „ }
VIII 4—12. „ Mollugo, in der Umgebung von Bern ausgegraben.

Am 25. Juli beobachtete ich auf VIII 5 und VIII 9 einige wenige Uredolager. Die übrigen Galium Mollugo blieben auch in der Folge pilzfrei; ebenso Galium rotundifolium und G. silvaticum. Auffallend ist, daß von den acht Galium Mollugo nur zwei infiziert wurden, trozdem reichliches und, soweit dies überhaupt festzustellen möglich ist, vorzügliches Infektionsmaterial verwendet wurde. Ob die Infektion der beiden Galium Mollugo durch Uredosporen oder durch Aecidiosporen oder durch beide erfolgt ist, kann natürlich nicht entschieden werden.

B. Infektionsmaterial von Galium verum.

In der Umgebung von Chur, Kanton Graubünden, kommt auf Galium verum ziemlich häufig ein Rostpilz vom Typus der Puccinia Galii vor. Ob dieser wirklich identisch ist mit der Puccinia Galii auf anderen Rubiaceen konnte ich nur durch Beobachtungen in der Natur nicht feststellen. So fand ich das eine Mal Galium Mollugo, wie unmittelbar in der Nähe stehende Galium verum pilzbefallen, während ein anderes Mal Galium Mollugo völlig gesund blieb, trotz einem benachbarten, dicht mit Uredolagern besetzten Galium verum.

Auch Versuchsreihe 6 ist nicht beweisend, obwohl es dort gelang, den Pilz von Galium Mollugo auf Galium verum zu übertragen; denn es könnte die Möglichkeit vorhanden sein, daß sich der Pilz auf Galium verum so sehr an diese Pflanze gewöhnt hat, daß er nicht mehr auf Galium Mollugo zu leben vermag. Durch das Experiment sollte aber noch eine andere Beobachtung geprüft werden: An der „Halde“ oberhalb Chur stehen auf einer kleinen Wiese zahlreiche Galium verum und Asperula cynanchica dicht durcheinander. Eine sorgfältige Durchforschung dieses Standortes zu verschiedenen Jahreszeiten ergab immer das gleiche Resultat: Galium verum be-

fallen von einer Puccinia, während auf Asperula cynanchica nie eine Spur eines Rostpilzes nachzuweisen war.

Versuchsreihe 9.

Infektionsmaterial: Teleutosporen auf Galium verum, die am 5. Oktober in der Nähe von Chur gesammelt wurden. Am 30. April 1904 wurden damit infiziert:

IX 1. Galium verum } Sämlinge.
IX 2. „ Mollugo } Sämlinge.
IX 3. „ „ im botan. Garten Bern ausgegraben.
IX 4. „ rubrum } Sämlinge.
IX 5. Asperula cynanchica } Sämlinge.
IX 6. „ odorata, im Bremgartenwald bei Bern ausgegraben.

Die Kontrolle ergab folgendes Resultat:

IX 1 zeigte am 11. Mai die ersten deutlichen Pykniden und am 27. Mai waren sowohl Aecidien wie Uredolager zu beobachten.

IX 2 u. 3: Beide Versuchspflanzen trugen am 10. Juni Aecidien und Uredolager. Alle beobachteten Sporenformen zeigten sich auf den Sämlingen mehr als 14 Tage früher als auf den eingetopften Pflanzen.

Die übrigen Versuchspflanzen blieben pilzfrei. Die Beobachtung, daß der Pilz auf Galium verum nicht auf Asperula cynanchica übergeht, findet durch diesen Versuch Bestätigung. Am 10. Juni wurde diese Versuchsreihe abgebrochen.

Tabelle zu den Infektionsversuchen V—IX. Spezialisation von Puccinia Galii auct.

Versuchspflanzen	Versuchsnummer und Infektionsmaterial				
	V	VI	VII	VIII	IX
	Teleutosporen von Gal. Mollugo	Teleutosporen von Gal. Mollugo	Aecid. + Uredo von Gal. Mollugo	Aecid. + Uredo von Gal. Mollugo	Teleutosporen von Gal. verum
Galium Mollugo	1 [1])	1 +	2 +	8 ± [5])	2 +
„ verum	1 —	2 +			1 +
„ silvaticum	2 ± [2])	1 ± [3])	1 —	2 —	
„ Aparine	2 —	1 ± [4])			
„ rotundifol.				1 —	
„ rubrum	1 —				1 —
Asperula odorata	2 [1])	2 —			1 —
„ cynanch.		1 —			1 —
„ taurina	1 —				

NB. + bedeutet positiver, — negativer, ± teilweiser Erfolg. Die Ziffern vor diesen Zeichen geben die Zahl der verwendeten Töpfe an. Wenn weiter nichts bemerkt ist, weisen jeweils alle Versuchspflanzen + oder — Erfolg auf.

In dieser Tabelle sind die Ergebnisse zusammengestellt, die wir erhielten bei Infektion mit Material von Galium Mollugo und Galium verum. Sie zeigen uns:

1) daß Puccinia Galii auf Galium Mollugo wirklich identisch ist mit der Puccinia auf Galium verum;

1) Nährpflanzen abgestorben.
2) Die eine Nährpflanze zeigt Pykniden, die andere ist abgestorben.
3) Der Pilz brachte es nicht bis zur Teleutosporenbildung.
4) Nur Pykniden.
5) Auf 2 Nährpflanzen Uredolager, die anderen blieben pilzfrei.

2) daß dieser Pilz auch auf Galium silvaticum übertragbar ist, indem er auf dieser Nährpflanze Pykniden, Aecidien und Uredosporen bildet. Hingegen scheint die Fähigkeit, Teleutosporen zu erzeugen, verloren gegangen zu sein.

3) Nur noch Pykniden werden auf Galium Aparine hervorgebracht, und

4) ganz immun blieben in unseren Versuchen Galium rubrum, G. rotundifolium, Asperula cynanchica, A. odorata und A. taurina.

C. Infektionsmaterial von Galium silvaticum.

Die einzigen aus der Literatur bekannten Kulturversuche mit Puccinia Galii auct. hat Bubák[1]) ausgeführt, und zwar mit Sporenmaterial, das von Galium silvaticum herrührte. „Ueberwinterte Teleutosporen dieser Puccinia von Galium silvaticum wurden massenhaft auf eine Menge etwa 1 cm hohen Keimpflanzen von Galium verum und G. Mollugo aufgetragen, und zwar am 16. Mai."

„Die Versuchspflanzen zeigten aber bis zum 13. Juni keine Infektion. An diesem Tage wurden auf dieselben Pflanzen wieder zahlreiche Aecidiosporen tragende Blätter von Galium silvaticum gebracht, welche teilweise außerdem schon von entwickelten Uredosporen bedeckt waren."

„Es erschien aber wieder kein Effekt auf beiden Galium-Arten. Demnach ist es sicher, daß diese Auteupuccinia einige Anpassungsformen umfaßt."

Die nachfolgenden Kulturversuche bestätigen und erweitern die Resultate Bubáks.

Versuchsreihe 10.

Das Teleutosporenmaterial wurde am 14. Oktober 1903 unterhalb der Neubrücke bei Bern gesammelt und am 19. April 1904 damit folgende Pflanzen infiziert:

X 1.	Galium silvaticum	1903, im Bremgartenwald bei Bern ausgegraben.
X 2.	„ Mollugo	im botan. Garten Bern ausgegraben.
X 3.	„ „	im botan. Garten Bern ausgegraben.
X 4 u. 5.	„ Aparine	Sämlinge.
X 6.	„ verum	Sämlinge.
X 7 u. 8.	„ Cruciata,	am Gurten bei Bern ausgegraben.
X 9 u. 10.	Asperula odorata	im Bremgartenwald ausgegraben.

Die Versuchspflanzen wurden am 24. April, 10., 14., 17., 27. Mai, 2., 4., 18. Juni einer Durchsicht unterzogen:

Bemerkenswert ist die auffallend lange Inkubationszeit. Nach Klebahn[2]) „zeigen sich die ersten sichtbaren Spuren einer erfolgreichen Infektion nicht früher als nach etwa 8 Tagen, sie können aber je nach der Pilzart auch bis 20 Tage oder noch länger auf sich warten lassen. Außerdem ist die Witterung von Einfluß, bei wärmerem Wetter erfolgt auch die Entwickelung des Schmarotzers schneller." In Versuchsreihe 10 zeigten sich erst am 10. Mai auf Galium silvaticum die ersten gelblichen Flecken, also 22 Tage nach Einleitung des Versuches. Ist diese lange Dauer der Inkubation eine spezifische Eigentümlichkeit unseres Pilzes, oder sind äußere Faktoren ihre Ursache? Schon Mitte

---

1) Bubák, Infektionsversuche mit einigen Uredineen. II. Bericht 1903. (Centralblatt f. Bakteriologie etc. Abt. II. Bd. XII. No. 11/16.)

2) Klebahn, Die wirtswechselnden Rostpilze. 1904. p. 35.

April trat ein starker Temperatursturz ein und die kühle Witterung hielt an bis Anfang Mai, worauf wieder wärmeres Wetter folgte. Ich vermutete, daß nur die tiefen Temperaturen die Entwickelung des Pilzes derartig verzögerten, was denn auch Versuch 11 vollauf bestätigte, indem die Inkubationszeit dieser Reihe nur 8 Tage betrug. Die niedrige Temperatur vermochte also die Inkubation um volle 14 Tage zu verlängern.

Bei einer Durchsicht am 17. Mai erweist sich Galium silvaticum als äußerst heftig infiziert, eine Unmasse von Pykniden haben sich entwickelt. Auffallend stark sind Stengel, Ansatzstellen der Blätter und Blattrippen befallen. An zahlreichen Stellen, besonders am Stengel und an den Ansatzstellen der Blätter, zeigen sich eben geöffnete Aecidien und Uredolager. Es ist völlig ausgeschlossen, daß dieser Uredo aus den Aecidiensporen entstanden ist; denn erstens waren am 14. Mai noch keine Aecidien zu erkennen und zweitens fanden sich diese Uredolager nur am Pyknidenmycel.

Die Infektion durch Basidiosporen ruft auf der Nährpflanze Deformationen hervor, die einerseits in Anschwellungen und andererseits in Verkrümmungen bestehen. Die Anschwellungen betreffen hauptsächlich die Ansatzstellen der Blattquirle. Aeltere Stengel erfahren bei Infektion keine Wachstumsstörung, während zartere Aeste öfters Biegungen ausführen. So konnte ich mehrfach beobachten, wie ein junger Zweig, mit einer Krümmung nach unten beginnend, einen Bogen von 360°, also einen vollständigen Kreis beschrieb.

X 4 u. 5.: Am 27. Mai waren auf beiden Galium Aparine spärliche Pykniden zu beobachten; am 2. Juni waren solche nur noch an 2 Blattspitzen von X 4 zu sehen. Auf der Unterseite des einen Blattes hatten sich zwei, auf der des anderen ein Uredolager gebildet. Aecidien waren nie zu sehen. Wenn also hier keine Verunreinigung vorliegt, so darf man annehmen, daß diese Puccinia Galium Aparine unter geeigneten Bedingungen spärlich zu infizieren vermag. Als Nährpflanze im Freien aber wird Galium Aparine kaum Bedeutung haben.

X 2 u. 3: Die beiden Galium Mollugo tragen zahlreiche hellorangefarbene Sporenhäufchen, die schon mit bloßem Auge von den braunen Uredolagern der Puccinia Galii zu unterscheiden sind und eine mikroskopische Prüfung bestätigt, daß wir es hier mit einer Verunreinigung durch Melamspora Galii zu tun haben. Von Puccinia Galii ist auf beiden Versuchspflanzen nichts zu bemerken.

Auch die übrigen Galium- und Asperula-Arten sind pilzfrei geblieben.

Versuchsreihe 11.

Eingeleitet am 10. Mai 1904. Infektionsmaterial: Teleutosporen, gesammelt unterhalb der Neubrücke bei Bern am 14. Oktober 1903. Versuchspflanzen:

XI 1 u. 2. Galium silvaticum im Bremgartenwald ausgegraben.
XI 2 u. 3. „ Mollugo im botan. Garten Bern ausgegraben.
XI 4. „ „ }
XI 5. „ verticillatum } Sämlinge.
XI 6. „ rubrum }
XI 7. „ Aparine }
XI 8. „ verum }
XI 9 u. 10. Crucianella Mollugi noides im botan. Garten Bern ausgegraben.
XI 11. Asperula odorata im Bremgartenwald.

Ergebnis: Am 17. Mai wurden auf Galium silvaticum die ersten gelben Flecken sichtbar und am 23. Mai konnte man auf beiden Nährpflanzen zahlreiche Pykniden beobachten. Mehrere junge Zweige führten Krümmungen aus, wie sie im vorigen Versuch beschrieben sind. Auch in diesem Versuch hatte sich schon jetzt Uredo gebildet, im ganzen 4 Lager auf der Unterseite von Blattansatzstellen. Aecidien konnte ich trotz sorgfältiger Durchsicht keine finden. Im Entwickelungsgang des Pilzes auf Galium silvaticum wird also unter gewissen Bedingungen die Aecidiengeneration übersprungen und am Pyknidenmycel bilden sich direkt Uredolager. Wir hätten hier einen Uebergang zu Puccinia Celakovskyana, der Brachyform auf Galium Cruciata. Ob sich im Freien die Verhältnisse gleich gestalten, ist mir nicht bekannt. Leider wurde es unterlassen, solche Beobachtungen in genügender Menge anzustellen. Zudem erscheint es mir fraglich, ob derartige Beobachtungen einwandfreie Resultate liefern. Daß der Pilz auf Galien, die im Freien wachsen, sich anders verhält, ist allerdings möglich. So konnte ich auf einem an sonniger Stelle befindlichen Galium silvaticum neben 6 schön entwickelten Aecidiumlagern ein einziges noch junges Uredopolster beobachten, das sich jedenfalls erst viel später entwickelt hatte. Immerhin steht fest, daß unter geeigneten Bedingungen die Bildung von Aecidien zeitlich und quantitativ hinter dem Auftreten von Uredolagern zurückbleibt, was für eine Ueberleitung zu Brachyformen spricht.

Ob das Pyknidenmycel, das Aecidien und Uredo hervorbringt, später auch noch Teleutosporen zu bilden vermag, konnte ich nicht mit Sicherheit feststellen. Auf Grund diesbezüglicher Beobachtungen scheint mir das nicht ausgeschlossen zu sein.

Am 23. Mai zeigten sich am Stengel der beiden Galium Mollugo XI 2 u. 3. einzelne Pykniden. Am 4. Juni waren am Ort der früheren Infektion nur noch trockene, abgestorbene dunkle Stellen wahrzunehmen. Der Pilz hatte offenbar die Nährzellen getötet und ging dabei selber zu Grunde. Merkwürdig ist, daß auf den großen derben Exemplaren sich Pykniden bilden konnten, während XI 4 mit den zarten Sämlingen (ca. 7 cm hoch) pilzfrei blieb. Bubák[1]) gelang es ebenfalls nicht mit Basidiosporen Sämlinge von Galium Mollugo (etwa 1 cm hoch) zu infizieren.

Auch Galium verum verhielt sich in den Versuchen Bubáks gegenüber Teleutosporen von Galium silvaticum immun, während in meinen Versuchsreihen (XI 8) Galium verum am 27. Mai deutliche Pykniden und auf der Unterseite eines Blattes wenige Uredolager aufwies.

Alle übrigen Versuchspflanzen blieben pilzfrei.

Versuchsreihe 12.

Mit Aecidien- und Uredomaterial aus den Versuchen 10 und 11 wurden am 1. Juni 1904 infiziert:

XII 1.	Galium silvaticum, Sämlinge.	
XII 2.	„ „ im Bremgartenwald bei Bern ausgegraben.	
XII 3—5.	„ Mollugo Sämlinge.	
XII 6—9.	„ „ am Gurten bei Bern ausgegraben.	
XII 10.	„ apricum	Sämlinge Petersburg.
XII 11.	„ ochroleucum	
XII 12.	„ saccharatum	
XII 13, 14.	„ grusinum	

1) Bubák, l. c.

XII 15.	Galium	verum	Sämlinge.
XII 16.	„	rubrum	
XII 17, 18.	„	purpureum	
XII 19.	„	Aparine	
XII 20.	„	erectum.	
XII 21, 22.	„	lucidum.	
XII 23.	„	silvestre (?).	

Bei einer Kontrolle am 18. Juni konnten auf beiden Galium silvaticum zahlreiche Uredolager nachgewiesen werden, während alle anderen Versuchspflanzen keinerlei Infektion zeigten.

Tabelle zu den Infektionsversuchen X—XII. Spezialisation der Form auf Galium silvaticum.

Versuchspflanzen	Versuchsnummer und Infektionsmaterial		
	X	XI	XII
	Teleutosporen von Galium silvaticum	Teleutosporen von Galium silvaticum	Aecidiosporen + Uredo von Galium silvaticum
Galium silvaticum	1 +	2 +	2 +
„ Mollugo	2 —	3 ± [2])	7 —
„ Aparine	2 ± [1])	1 —	1 —
„ verum	1 —	1 ± [1])	1 —
„ Cruciata	2 —		
„ verticillatum		1 —	1 —
„ rubrum		1 —	1 —
„ apricum			1 —
„ ochroleucum			1 —
„ saccharatum			1 —
„ purpureum			1 —
„ grusinum			1 —
„ erectum			1 —
„ lucidum			1 —
„ silvestre			1 —
Crucianella Molluginoides		2 —	
Asperula odorata	2 —	1 —	

NB. + bedeutet positiver, — negativer, ± teilweiser Erfolg. Die Ziffern vor diesen Zeichen geben die Zahl der verwendeten Töpfe an. Wenn weiter nichts bemerkt ist, weisen jeweils alle Versuchspflanzen + oder — Erfolg auf.

Die Resultate, die sich aus den Versuchen X—XII ergaben, sind in obiger Tabelle zusammengefaßt und zeigen, daß

1) Teleutosporen von Galium silvaticum diese Pflanze selbst wieder infizieren können;

2) Galium verum, G. Aparine, G. Mollugo von dieser Form spärlich befallen werden.

3) Immun bleiben Galium Cruciata, G. verticillatum, G. rubrum, G. apricum, G. ochroleucum, G. saccharatum, G. grusinum, G. erectum, G. lucidum, G. silvestre (?), Crucianella Molluginoides, Asperula odorata.

Nach unseren Versuchen zu schließen, ist die Puccinia auf Galium silvaticum ziemlich streng spezialisiert. Die teilweisen Erfolge

1) Pykniden und Uredo, keine Aecidien.

2) Auf den eingetopften Exemplaren Pykniden, die nachher abstarben; Sämlinge pilzfrei.

auf Galium verum, G. Mollugo und G. Aparine dürften nicht zu schwer ins Gewicht fallen, wenn wir bedenken, daß z. B. in Versuch 10 die Infektion des ca. 25 cm hohen kräftigen Galium silvaticum eine so heftige war, daß der Wirt beinahe getötet wurde, auf Galium Aparine aber nur 3 Uredolager sich bildeten, während Galium Mollugo und Galium verum vom Pilze nicht angegriffen wurden. Wahrscheinlich wird es der Pilz auf diesen 3 Pflanzen überhaupt nicht bis zur Bildung von Teleutosporen bringen können. Auf Grund dieser biologischen Verhältnisse und auch wegen später zu beschreibenden morphologischen Unterschieden ist die Form auf Galium silvaticum von der Puccinia Galii auct. abzutrennen als Puccinia Galii silvatici[1]).

D. Infektionsmaterial von Asperula odorata.

Mit Sporenmaterial von Puccinia Celakovskyana, Puccinia Galii (auf Galium Mollugo und Galium verum) und Puccinia Galii silvatici Otth, also in den Versuchsreihen 1, 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11 ist es mir nie gelungen, auf Asperula odorata eine erfolgreiche Infektion zu erzielen. Es lag deshalb die Vermutung nahe, daß die Puccinia auf Asperula odorata eine biologische Art sei, was auch die nachfolgenden Versuche durchaus bestätigten.

Versuchsreihe 13.

Das Infektionsmaterial, Teleutosporen auf Asperula odorata, wurde am 9. März 1904 im Bremgartenwald bei Bern gesammelt und am 25. April damit die Reihe eingeleitet.

XIII 1. Asperula odorata, im Bremgartenwald 1903 ausgegraben.
XIII 2 u. 3. Asperula taurina, im bot. Garten Bern 1902 „
XIII 4 „ 5. Galium Mollugo „ „ „ „ 1904 „
XIII 6 „ 7. „ silvaticum, im Bremgartenwald 1904 ausgegraben.

Kontrolle der Versuchspflanzen wurde vorgenommen am 14., 16., 18., 23., 28. Mai und am 3. Juni.

XIII 1 (Asperula odorata): Am 14. Mai zeigten sich auf dieser Nährpflanze die ersten hellen Verfärbungen. Am 18. Mai konnte ich an 5 verschiedenen Stellen, vornehmlich am Stengel, Uredolager konstatieren. Selbst mit der Lupe waren nirgends mit Sicherheit Pykniden nachzuweisen. Am 28. Mai hatten sich schon zahlreiche Aecidien gebildet. Dieser Pilz vermag also unter Umständen seine Uredosporen selbst vor den Pykniden zu bilden und noch auffallender als bei Puccinia Galii silvatici Otth war die reichliche Entwickelung von Uredolagern am Pyknidenmycel und das spätere und spärliche Auftreten der Aecidien. Unsere Versuchspflanze, ein derbes, kräftiges Exemplar, stand natürlich in bezug auf Temperatur, Feuchtigkeit etc. unter ganz anderen Verhältnissen als Pflanzen, die im Freien wachsen, und darum ist es nicht undenkbar, daß sich der Pilz auf letzteren anders verhält. Wenigstens beobachtete ich am 8. Mai im Königbergwald bei Bern auf noch jungen Asperula odorata zahlreiche Aecidien, während Uredo

---

1) Nachdem meine Untersuchungen über diesen Gegenstand zum größten Teil abgeschlossen waren, fand ich, daß Otth in seinem Herbarium den Pilz auf Galium silvaticum so bezeichnet hatte. Soweit sich feststellen ließ, hat aber Otth darüber nichts veröffentlicht.

nur spärlich vorhanden war. Ob in unserem Versuch die derbe Beschaffenheit der Nährpflanze oder die erhöhte Feuchtigkeit und Temperatur oder alle drei Faktoren zusammen schuld waren, daß sich die Sporenfolge anders gestaltete als unter natürlichen Bedingungen, wage ich auf Grund dieses einen Versuches nicht zu entscheiden. Weitere Beobachtungen und Versuche müssen daher noch feststellen, ob die Sporenentwickelung sich auf jungen Pflanzen anders macht als auf alten, auf Stengelteilen anders als auf der Blattspreite, ob Temperatur, Feuchtigkeit, Beleuchtung und andere äußere Faktoren auf die Unterdrückung der einen oder anderen Sporenform Einfluß haben.

XIII 6 (Galium silvaticum): Am 28. Mai konnte ich am Stengel dieser Versuchspflanze eine kleine Gruppe von Aecidien mit Uredo beobachten. Es ist kaum anzunehmeu, daß diese Infektion durch Teleutosporen von Asperula odorata hervorgerufen wurde; denn das andere Galium silvaticum (XIII 7) blieb gesund und auch in allen anderen Versuchen mit der Puccinia auf Asperula odorata blieb Galium silvaticum immer pilzfrei. Die Infektion ist also auf eine Verunreinigung zurückzuführen.

Alle übrigen Versuchspflanzen waren nicht befallen.

Versuchsreihe 14.

Teleutosporenmaterial gleicher Herkunft wie in Versuch 13 wurde am 11. Mai 1904 auf folgende Pflanzen gebracht:

XIV 1.	Asperula odorata, im Bremgartenwald 1903 ausgegraben.	
XIV 2 u. 3.	„ cynanchica, Sämlinge.	
XIV 4.	„ taurina, botan. Garten Bern.	
XIV 5.	„ laevigata, Sämlinge.	
XIV 6.	Crucianella Molluginoides,	botan. Garten Bern.
XIV 7 u. 8.	Galium Mollugo	
XIV 9.	Galium verum	Sämlinge.
XIV 10.	„ Aparine	
XIV 11.	„ rubrum	

Kontrolle wurde vorgenommen am 15. Mai, 3., 24. Juni.

Ergebnis: Auf Asperula odorata waren die Aecidien und Uredolager gleichzeitig erschienen (3. Juni). Oefters erzeugt das Mycel, das auf der Blattunterseite Aecidien bildete, an der gleichen Stelle auf der Blattoberseite Uredolager.

Die übrigen Versuchspflanzen blieben während der ganzen Versuchsdauer frei von Infektion.

Versuchsreihe 15.

Mit Aecidio- und Uredosporen, die aus Versuch 13 gewonnen wurden, leitete ich am 30. Mai 1904 folgende Reihe ein:

XV 1 u. 2.	Asperula odorata, am Gurten 1904 ausgegraben.	
XV 3 u. 4.	„ laevigata, Sämlinge.	
XV 5, 6 u. 7.	„ cynanchica aus Versuch 9.	
XV 8.	„ taurina, botan. Garten Bern.	
XV 9 u. 10.	Galium silvaticum	9. Sämlinge, 10. im Bremgartenwald ausgegraben.
XV 11.	„ verum.	

Die Versuchspflanzen wurden am 7. Juni, 9. und 16. August durchgesehen, wobei sich folgendes ergab:

Auf den untersten Blattrosetten der beiden Asperula odorata

bemerkte ich am 9. August zahlreiche Uredolager; die übrigen Versuchspflanzen dagegen blieben pilzfrei.

Die Resultate der drei letzten Reihen lassen sich in untenstehender Tabelle wiedergeben:

Tabelle zu den Infektionsversuchen XIII—XV. Spezialisation der Form auf Asperula odorata.

Versuchspflanzen	Versuchsnummer und Infektionsmaterial		
	XIII	XIV	XV
	Teleutosporen v. Asperula odorata	Teleutosporen v. Asperula odorata	Aecidiosp. u. Uredo v. Asperula odorata
Asperula odorata	1 +	1 +	2 +
„ cynanchica		2 —	2 —
„ laevigata		1 —	2 —
„ taurina	2 —	1 —	2 —
Galium silvaticum	2 —[1]		2 —
„ Mollugo	2 —	2 —	
„ verum		1 —	1 —
„ Aparine		1 —	
„ rubrum		2 —	
Crucianella Molluginoides		1 —	

NB. + bedeutet positiver, — negativer Erfolg. Die Ziffern vor diesen Zeichen geben die Zahl der verwendeten Töpfe an. Wenn weiter nichts bemerkt ist, weisen jeweils alle Versuchspflanzen + oder — Erfolg auf.

Durchgehen wir diese Ergebnisse kurz, so sehen wir:

1) daß der Pilz auf Asperula odorata diese Pflanze wieder infizieren kann,

2) aber nicht überzugehen vermag Asperula cynanchica, A. laevigata, A. taurina, Galium silvaticum, G. Mollugo, G. verum, G. Aparine, G. rubrum, Crucianella Molluginoides.

Die Spezialisation dieses Pilzes ist also sehr ausgeprägt und auch morphologisch weicht er von den übrigen Formen ab, so daß es gerechtfertigt erscheint, die Form von Puccinia Galii auct. abzutrennen als Puccinia Asperulae odoratae n. sp.

E. Infektionsmaterial von Asperula cynanchica.

In unseren Versuchen verhielt sich Asperula cynanchica stets immun gegenüber Puccinia Galii auf Galium Mollugo und G. verum und gegenüber der Puccinia Asperulae odoratae (Versuche 6, 9, 14, 15). Es ist deshalb anzunehmen, daß auch hier eine Anpassungsform vorliegt, und der nachfolgende Versuch macht diese Vermutung noch wahrscheinlicher.

Versuchsreihe 16.

Teleutosporen, die am 5. Oktober 1903 in der Nähe von Felsberg, Kanton Graubünden, gesammelt wurden, brachte ich am 16. Mai 1904 auf folgende Versuchspflanzen

XVI 1 u. 2. Asperula cynanchica } Sämlinge.
XVI 3 u. 4. „ laevigata } Sämlinge.
XVI 5. „ taurina, botan. Garten Bern 1903.
XVI 6 u. 7. „ odorata, Bremgartenwald 1903.

1) Auf der einen Versuchspflanze ist durch Verunreinigung ein Lager mit Aecidien und Uredo entstanden, die andere Pflanze ist gesund.

XVI 8 u. 9. Galium Mollugo, botan. Garten Bern 1904.
XVI 10. „ verum, Sämlinge.
XVI 11. „ silvaticum, Bremgartenwald 1904.

Bald nach der Einleitung des Versuches gingen die beiden Asperula cynanchica, sowie auch ein Galium Mollugo (XVI 8) zu Grunde. Da bis zum 6. Juli auf den übrigen Versuchspflanzen sich keine Spur einer Infektion wahrnehmen ließ, dürfen wir annehmen, daß diese Pflanzen von unserem Pilze nicht angegriffen werden. Durch einen Objektträgerversuch konnte übrigens reichliche Basidiosporenbildung nachgewiesen werden.

Da auch morphologische Unterschiede gegenüber den anderen Formen vorliegen, haben wir es hier mit einer selbständigen Art, Puccinia Asperulae cynanchicae n. sp., zu tun.

Zusammenfassung.

Unsere Versuche haben zu folgenden Ergebnissen geführt:

1) Puccinia Celakovskyana Bubák ist auch in Bezug auf ihr biologisches Verhalten verschieden von den übrigen Formen der Puccinia Galii auct.

2) Die Puccinia auf Galium Mollugo ist identisch mit derjenigen auf Galium verum, und die alte Bezeichnung Puccinia Galii auct. bleibt für sie bestehen.

Von der Puccinia Galii als selbständige Formen abzutrennen sind:

3) die Form auf Galium silvaticum als Puccinia Galii silvatici Otth,

4) die Form auf Asperula odorata als Puccinia Asperulae odoratae n. sp.,

5) die Form auf Asperula cynanchica als Puccinia Asperulae cynanchicae n. sp.

(Schluß folgt.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 8.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Sektion für Bakteriologie der Kaiserl. Gesellschaft für Naturkunde, Ethnologie und Anthropologie in Moskau.

Sitzung vom 6. November 1904.

Perekalin berichtet über ein von ihm aus Sauerkohl ausgeschiedenes acidophiles Bakterium, welches sich von sämtlichen gegenwärtig bekannten acidophilen Bakterien sowohl durch seine morphologischen als auch physiologischen Eigenschaften, unter anderem auch dadurch unterscheidet, daß es ein stark saures Medium nicht nur verträgt, sondern sogar bevorzugt. Dasselbe wurde aus Sauerkohl nach der Heymannschen Methode isoliert: Ein Teil des Substrats wird in Bouillon gebracht, welche $^1/_2$ Proz. Essigsäure und 2 Proz. Traubenzucker enthält; nach 2 Tagen bei 37° gutes Wachstum; sodann wird auf Zuckeragarplatten ausgegossen, hierauf wiederum auf saure Zuckerbouillon geimpft.

Das isolierte Bakterium hat mikroskopisch das Aussehen immobiler kurzer Stäbchen mit abgerundeten Enden, in kurze Ketten aus 5—6 Gliedern vereint; mitunter sieht man lange Stäbchen, wahrscheinlich infolge von Vereinigung mehrerer, aber ohne deutlich sichtbare Grenze zwischen den Gliedern. Auf Gelatine und Agar 2 Typen von Kolonieen: oberflächliche und tiefe. Die oberflächlichen Kolonieen auf Gelatine sind rund, mit gezacktem Rand, bisweilen sind die Zacken zu Ausläufern verlängert, was den Kolonieen eine wellenförmige, einigermaßen an Darmschlingen erinnernde Form verleiht; die großen Kolonieen haben ein verdicktes Zentrum, feine, durchsichtige Ränder; die jungen Kolonieen sind mitunter durchweg durchsichtig. Makroskopisch sind die Kolonieen fast weiß, mikroskopisch gelblich; die Größe erreicht 4 μ; die Kolonieen sind bisweilen von einem weißen Hof von derselben Konsistenz, wie die Kolonieen selbst, umgeben. Die Tiefenkolonieen auf Gelatine rund, mit glattem Rand und gekörnter Struktur, makro- und mikroskopisch gelb (die kleinen bisweilen weiß); erreichen 2 μ im Durchmesser. Die Oberflächenkolonieen auf Agar unregelmäßig rund, mit gekörnter Struktur, die Größe der Kolonieen erreicht 2—3 μ. Die Tiefenkolonieen auf Agar sind von sehr veränderlicher Form, von unregelmäßigen und runden bis zu ovalen und kahnförmigen, häufig von haarartigen Ausläufern umgeben.

Die Bakterien gedeihen sowohl in stark alkalischen, als auch in stark sauren Medien; sie vertragen $^1/_2$ Proz. Soda und 2 Proz. Essigsäure; als optimale Reaktion erscheint die eines $^1/_2$ Proz. Essigsäure

enthaltenden Mediums. Auf alkalischem Nährboden ist die Form der Stäbchen eine andere als auf saurem; dieselben werden dicker und liegen vereinzelt oder zu 2—3 Exemplaren vereint, längere Ketten sind selten. Das Temperaturoptimum ist 37° C, doch wächst das Bakterium auch bei 20° und sogar bei Zimmerwärme, aber sehr schlecht. Besseres Wachstum in Abwesenheit von Sauerstoff als bei Zutritt desselben.

Wächst auf Gelatine und Kartoffel. Gutes Wachstum bloß auf zuckerartigen Nährmedien. Gelatine wird nicht verflüssigt, sterilisierte Milch nicht koaguliert und nicht transparent gemacht. In zuckerigen Nährmedien bildet es Säure. Färbt sich nicht nach Gram und Ziehl; bildet keine Sporen. Für weiße Mäuse bei subkutaner Einspritzung nicht pathogen.

Sitzung vom 4. Dezember 1904.

Budinoff spricht über Käsereifung und kommt zu folgenden Schlüssen:

1) Die Menge der Mikroben im reifenden russischen Schweizerkäse steigt bis zu Ende des 1. Monats rapid an und sinkt sodann im Laufe der weiteren 4½ Monate.

2) Die Flora des reifenden russischen Schweizerkäses ist vollkommen identisch mit derjenigen des Emmentalerkäses.

3) Dieselbe besteht vornehmlich aus B. lactis aërogenes, B. Freudenreichi und Milchsäurekokken. (Die vorletzten stammen vom Lab, die übrigen aus der Milch und dem Lab.)

4) Den ersten Platz nehmen in der Käseflora die verflüssigenden Kokken ein, welche aus der Milch hineinkommen, doch gehen sie verhältnismäßig schnell zu Grunde.

5) Peptonisierende Stäbchen, welche zur Kartoffel- und Heugruppe gehören, sind sehr selten anzutreffen.

6) Anaëroben der Buttersäuregärung, auf welche Rodella, Weigmann, Klenki u. a. verweisen, wurden nicht vorgefunden.

L. W. Kohn (Moskau).

Referate.

Czapek, F., Biochemie der Pflanzen. Bd. I. Jena (Gustav Fischer) 1905.

Wollte man unter „Biochemie der Pflanzen" nur eine Aufzählung und möglichst genaue und vollständige Beschreibung der in den Pflanzen aufgefundenen Stoffe verstehen, so würde man nicht in Verlegenheit kommen, eine Anzahl vortrefflicher Werke zu nennen, die ja vielfach der Erweiterung und Ergänzung bedürfen mögen, dieses Ziel aber im wesentlichen erreichen. Auch wer nur diese Ansprüche stellen wollte, würde durch den ersten Band des vorliegenden Buches von Czapek, das in seltener Vollständigkeit die große Literatur bis auf die jüngste Zeit durchgearbeitet hat, vollauf befriedigt werden. Es bietet aber weit mehr, dem tiefgefaßteren Titel entsprechend. Bei aller Vollständigkeit tritt doch nicht so sehr dieser oder jener chemische Stoff nach seinen Reaktionen oder Eigenschaften in den Vordergrund, als vielmehr die Rolle, die ihm im Stoff- und Kraftwechsel des Organismus zukommt. Dieser Grundzug ist in jedem Kapitel zu erkennen, auch ohne daß der

Verf. ausdrücklich darauf hinweist und auch dort, wo gelegentlich das rein chemische Detail anscheinend überwiegt. So zeigt jeder Abschnitt rein physiologische und rein chemische Forschung in enger Zusammenarbeit, teils schon reiche Erfolge zeitigend, teils solche erst versprechend.

Was speziell die für diese Zeitschrift besonders belangreichen Verhältnisse von Pilzen und Bakterien betrifft, so ist darauf mit ganz besonderer Sorgfalt Rücksicht genommen. Es genügt, auf die Kapitel 7 (Fettvorkommen und Fettresorption), 8, § 4 (Lecithine), 9, §§ 4 u. 9 (Phytosterine), 27, §§ 1 u. 2 (Membran) zu verweisen, um zu zeigen, wie viel schwer aufzufindendes Material in gründlicher Durcharbeitung geboten wird. Nicht minder wichtig werden für den technischen Mykologen die Darstellungen von Stoffen sein, deren Umwandlung durch Mikroorganismen seinem Studiengebiete anfällt. Es sei hier, nur als Beispiel, auf die §§ 6, 7, 8 des 27. Kapitels hingewiesen, welche sich mit den Pentosanen, Pektinsubstanzen und Gummiarten befassen. Gut die Hälfte des speziellen Teiles ist den Zuckerarten der Pflanze, sowie dem Kohlehydratstoffwechsel gewidmet, wobei Bakterien und Pilze weitgehend berücksichtigt sind. Aber auch im übrigen Teile wird der Bakteriologe kaum eine Seite ohne Nutzen übergehen können. Die Darlegungen des 11. Kapitels (die pflanzlichen Zuckerarten) stellen eine vollständige Zuckerchemie dar, die als „allgemeine Orientierung" bezeichnete Einleitung ist von seltener Klarheit.

Ganz besonders sei hingewiesen auf das mit sichtlicher Liebe geschriebene 26. Kapitel, welches „die Kohlensäureverarbeitung und Zuckersynthese im Chlorophyllkorn" zum Gegenstande hat. Ref. ist zu wenig Physiologe, um die auf dieses Thema verwendete Mühe ganz würdigen zu können, die Bedeutung und auch die Schönheit der Darstellung hat er voll empfunden.

Dem speziellen Teile geht ein allgemeiner voraus. Nach einer historischen Einleitung wird das Protoplasma als „Substrat dnr chemischen Vorgänge im lebenden Organismus" besprochen, die Strukturen desselben und die Protoplasmatheorieen gewürdigt. Zwischengeschaltet ist eine Betrachtung der Eigenschaften der Kolloide, deren Erforschung, so viel da auch noch zu tun bleibt, wohl eine neue Phase der biologischen Chemie bezeichnet. Die physikalische Chemie, der man diese Untersuchungen überlassen hat, findet auch im 2. Kapitel des allgemeinen Teils gebührende Berücksichtigung. Es sei besonders auf die Abschnitte über Katalyse und Enzymwirkungen hingewiesen, die das Bekannte in großer Vollständigkeit zusammenfassen. Die einzelnen Enzymwirkungen sind dann jedesmal im speziellen Teile besonders und ausführlich berücksichtigt.

Die Vielseitigkeit des Werkes beweist am besten der letzte Abschnitt des allgemeinen Teils, der von den Cytotoxinen handelt, Themen also, die man sonst in einer Pflanzenchemie kaum zu finden erwartet, während der Verf. klar erkennt, daß diese beiden fast ausschließlich in der tierischen Physiologie und Pathologie studierten Verhältnisse sehr wohl eine allgemeine biologische Bedeutung gewinnen können. Freilich wird wohl dieses Kapitel wahrscheinlich am meisten sich ändern, ehe es eine definitive Ausgestaltung wird erfahren können.

Die Besprechung eines solchen Werkes kann keinen anderen Zweck erfüllen, als den, auf dasselbe aufmerksam zu machen. In seiner Auffassung grundlegend, wird es in seinen Einzelheiten den weitesten wissenschaftlichen Kreisen in kürzester Zeit unentbehrlich sein.

Es wird Gelegenheit sein, beim Erscheinen des vollständigen Werkes auf dasselbe noch näher einzugehen. Bail (Prag).

Ost, H., Die Isomaltose. (Zeitschr. f. angew. Chemie. 1904. Heft 44. — Allgem. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. Jahrg. XXXII. 1904. No. 49. 50—52.)

Verf. beweist an der Hand eingehender Versuche die Nichtexistenz der Isomaltose, welche nach Lintner und Dull bei der Hydrolyse der Stärke als Zwischenprodukt zwischen Dextrinen und Maltose entstehen und die Hauptursache der langsamen Nachgärung des Bieres sein soll. Diese Isomaltose weicht von derjenigen E. Fischers, welche durch Reversion von Dextrose mit Säure entsteht und mit Bierhefe unvergärbar ist, bezüglich ihrer Eigenschaften wesentlich ab. Verf. hat festgestellt, daß bei der gemäßigten Hydrolyse der Stärke durch Oxalsäure neben Dextrose und Dextrinen viel Maltose als Zwischenprodukt, aber nicht die Isomaltose Lintners entsteht. Das Produkt, welches Lintner und Dull, Dierssen, Syniewski und andere für Isomaltose halten, besteht aus Maltose mit beigemengten, leicht löslichen Dextrinen und Nichtzuckerstoffen. Die Drehung der Osazone ist ein gutes Unterscheidungsmittel der Maltose von der unvergärbaren Isomaltose Fischers, und zwar dreht Maltosazon stark rechts, Isomaltosazon Fischer links. Kausch (Charlottenburg).

Schander, R., Ueber den Böcksergeschmack im Wein. (Vortrag bei der Tagung des Dtsch. Weinbau-Vereins in Konstanz 1904.)

Fußend auf vorstehenden wissenschaftlichen Beobachtungen, empfiehlt der Verf. der Praxis als Vorbeugungsmittel gegen Böckser, das Schwefeln gegen Oidium nicht zu spät vorzunehmen und beim Einbrennen der Fässer richtig zu verfahren, als Heilmittel frühes Abziehen des böcksernden Weines und starkes Lüften, ferner Abziehen in ein kräftig eingebranntes Faß und Umgären mit Reinhefe.

Boetticher (Geisenheim).

Jensen, C. O., Grundriß der Milchkunde und Milchhygiene. Mit 22 Textabb. Stuttgart (Ferdinand Enke) 1903.

Das Buch umfaßt 228 Seiten und ist außer der Einleitung in 5 Abschnitte eingeteilt.

Im 1. Abschnitt wird die Milch und ihre Zusammensetzung behandelt. Besonders eingehend werden die Variationen der Zusammensetzung der Kuhmilch und die Aenderung des Sekretes bei Euterleiden geschildert. Auch die Veränderungen, die die Milch durch Mikroorganismen und infolge zu starker Erhitzung erleidet, finden hier Erwähnung.

Der 2. Abschnitt beschäftigt sich mit den schädlichen Eigenschaften, die die Milch durch Zusatz von antiseptischen Stoffen und besonders durch Uebertragung von Infektionsstoffen vom Rind auf den Menschen mittels der Milch erlangen kann. Besonders ausführlich werden die Erreger der Infektionskrankheiten behandelt und bietet dieser Abschnitt in erster Linie viel Lehrreiches für den Tierarzt.

Im nächsten Abschnitt wird das Pasteurisieren und Sterilisieren der Milch besprochen und die Licht- und Schattenseiten einer strengen Kritik unterzogen. Verf. hält es für zweckmäßig, in betreff des Verkaufs „pasteurisierter“ Milch folgende Anforderungen zu erlassen:

1) Unter der Bezeichnung „pasteurisierter" Milch ohne Angabe darf nur solche Milch feilgehalten werden, die auf wenigstens 80° erwärmt gewesen ist.

2) Milch, die durch Erwärmung auf weniger hohe Temperaturen pasteurisiert worden ist, darf nur als „pasteurisierte" verkauft werden, wenn sie mit einer, den Erwärmungsgrad ergebenden Etikette versehen ist, und erst nachdem die sanitären Behörden sich überzeugt haben, daß das betreffende Geschäft ein derartiges Pasteurisieren in sicherheitgewährender Weise durchzuführen vermag.

Die Vorteile, welche das Pasteurisieren der Marktmilch mit sich bringt, sind vom hygienischen Standpunkt aus folgende:

1) Die spezifisch pathogenen Bakterien werden unschädlich gemacht.

2) Die Hauptmasse anderer Bakterien wird ebenfalls getötet und die Milch wird deshalb haltbarer.

3) Das Pasteurisieren erzwingt ein besseres Auslieferungsverfahren hinsichtlich der Milch als sonst gewöhnlich gebräuchliche.

Die Schattenseiten des Pasteurisierens finden auf der folgenden Seite Erwähnung:

1) Selbst bei der Anwendung selbstregulierender Pasteurisierapparate ist es schwer, die absolute Garantie zu schaffen, daß alle Milch auf die erforderliche Temperatur erwärmt worden ist.

2) Das Pasteurisieren verursacht nicht so gar geringe Unkosten, mithin ein Steigen des Verkaufspreises. (In Danzig wird pasteurisierte Milch nicht teurer verkauft wie gewöhnliche. Bemerkung des Ref.)

3) Dasselbe verdeckt bis zu einem gewissen Grade einen verdorbenen Zustand, der vor der Erwärmung vorhanden ist. Es kann in der Milch eine ziemlich reiche Entwickelung von Fäulnisbakterien und anderen Bakterien, ebenfalls beginnende Milchsäuregärung vorhanden sein; durch das Pasteurisieren werden die Bakterien getötet, mithin die begonnenen Umsätze unterbrochen; und durch das Aussehen oder den Geschmack der Milch wird man nicht erfahren können, ob die Milch verdorben war und ob sie Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe, vielleicht sogar toxische Stoffe enthält. Ueberhaupt besitzen wir gegenwärtig kein Mittel, um zu entscheiden, ob die pasteurisierte Milch vor der Erwärmung verdorben war oder nicht, während in betreff der rohen Milch deren Haltbarkeit und Bakteriengehalt gute Stützpunkte für einen solchen Nachweis abgeben.

4) Die das Pasteurisieren überlebenden Bakterien sind größtenteils schnell wachsende Fäulnisbakterien, die in der rohen Milch von den Milchsäurebakterien niedergehalten werden, sich in der pasteurisierten aber sehr schnell vermehren und unzweifelhaft auch im stande sind, giftige Stoffe in dieser zu erzeugen. Man hat deswegen auch vorgeschlagen, der Milch nach dem Pasteurisieren Reinkulturen von Milchsäurebakterien zuzusetzen, um die Fäulnisbakterien niederzuhalten. Aus den Ergebnissen von Untersuchungen der Kopenhagener Gesundheitskommission geht hervor, daß von 142 Proben pasteurisierter Milch 98 Proben über 100000 Bakterien in 1 cm enthielten.

Der Vorzug des Sterilisierens vor dem Pasteurisieren sollte darin bestehen, daß sämtliche Bakterien getötet werden und die Milch mithin auf unbegrenzte Zeit haltbar würde; bei fast allen bisher angestellten Untersuchungen der auf den Markt gebrachten „sterilisierten Milch" hat es sich jedoch erwiesen, daß die Milch nicht steril war, sondern Bacillensporen enthielt. Da die sterilisierte Milch überdies wegen der partiellen

Umbildung der Eiweißstoffe und der Laktose einen weniger guten Geschmack hat und ihre Darstellung teurer ist, bietet sie im allgemeinen keine besonderen Vorteile vor der pasteurisierten dar. Am Schluß dieses Abschnittes erwähnt Verf. noch lobend die Milchkonserven und den Regenerativerhitzer.

Im 4. Abschnitt wird die Anwendung der Milch für kleine Kinder erörtert. Zunächst wird auf den Unterschied der Kuh- und Frauenmilch aufmerksam gemacht, sodann bespricht Verf. die Milchpräparate, Gärtners Fettmilch, Woltmers Muttermilch, Backhaus' Kindermilch u. s. w. Als Ersatz für Muttermich wird Eselmilch und Stutenmilch empfohlen. Ziegenmilch der Kuhmilch vorzuziehen, liegt kein Grund vor, da die früher behauptete Seltenheit der Tuberkulose bei der Ziege sich als falsch erwiesen hat. Verf. ist ein Gegner der Trockenfütterung, da von verschiedenen Seiten Mitteilungen vorliegen, daß für kleine Kinder in großem Umfang Milch benützt worden ist, die von Kühen herrührte, welche mit Grünfutter, Rüben, Oelkuchen u. s. w., ja sogar fast ausschließlich mit Schlempe gefüttert wurden, ohne daß dadurch schädliche Folgen entstanden. Dagegen hätten die Behörden Anlaß, über den Gesundheitszustand der betreffenden Bestände wirksame Kontrolle zu führen, da man unbestreitbar an Milch, die zu höherem Preise unter der Bezeichnung „Kindermilch" verkauft wird, die Forderung muß stellen können, daß sie von Kindern in rohem Zustande genossen werden kann, ohne die Gefahr einer Infektion fürchten zu müssen.

Ueber die Kindersterblichkeit im ersten Jahre bringt Verf. interessante Zahlen. Während in Schweden und Norwegen nur 10,0 Proz. sterben, steigt die Zahl in Preußen auf 20,5 Proz. und in Sachsen sogar auf 28,0 Proz. Unter den Städten steht Berlin mit 25,3 Proz., Budapest mit 28,0 Proz., München mit 31,4 Proz. und Ingolstadt mit 40,9 Proz. an der Spitze. Nach Ansicht des Verf. lassen die günstigen Wirkungen, die man beim Aufziehen der Kinder mit roher Milch hat, auf das Vorhandensein von Antitoxinen möglicherweise schließen, die durch das Erhitzen der Milch destruiert werden. Bisher hat man keinen hinlänglichen Anhaltspunkt dafür, daß die gekochte Milch schwerer zu verdauen sei als die rohe. Verf. ist der Meinung, daß durch vielfache Einführung der sterilisierten Milch die verminderte Kränklichkeit und Sterblichkeit der kleinen Kinder zurückzuführen sei. (Nach meiner Ansicht sind es in erster Linie die Fortschritte auf dem Gebiete der Hygiene, die allmählich auch Gemeingut des Volkes worden, bessere Wohnungsverhältnisse, Aufklärung durch Vorträge, Kinderziehanstalten, Säuglingsheime u. dergl., die namentlich in den großen Städten die verminderte Sterblichkeit der Säuglinge bedingen. Meines Erachtens ist sicherlich die sterilisierte Milch schon deswegen nicht der Hauptgrund, weil wegen des verhältnismäßig hohen Preises es nur wenigen möglich ist, mit derselben ihre Kinder nähren zu können. Der Ref.)

Im 6. Abschnitt wird die Kontrolle des Oeffentlichen mit der Produktion und Verhandlung der Milch behandelt. Er zerfällt in 4 Unterabteilungen:

1) Bestimmungen rücksichtlich der Produktion der Milch.
2) Bestimmungen rücksichtlich des Verkaufes der Milch.
3) Die Kontrolle des Oeffentlichen mit der unverfälschten Beschaffenheit der Milch.
4) Die Kontrolle des Oeffentlichen mit dem unverdorbenen Zustand der Milch.

In einem Anhang wird ein Runderlaß an die Herren Oberpräsidenten in Preußen, betreffend die Regelung des Verkehrs mit der Milch und die Bedingungen, unter denen das Milchgeschäft „Trifolium" in Kopenhagen die Milch verkauft, wiedergegeben.

Selbstverständlich kann ein Referat an dieser Stelle nur den Zweck haben, in Kürze das zu besprechen, was für den Bakteriologen von Interesse ist. Allen den Fachleuten aber, deren Aufgabe es ist, sich mit der Milchkunde und Milchhygiene zu beschäftigen, bietet dieses Buch manches Lehrreiche und Anregende. Gordan (Danzig).

Adametz, L., und Chrząszcz, T., Ueber die Bildung flüchtiger Alkaloide in sterilisierter Magermilch durch Bacillus nobilis und das Vorkommen ebensolcher Verbindungen im Emmentalerkäse. (Oesterreich. Molkerei-Zeitung. 1905. No. 3 bis 5.)

Gelegentlich der Suche nach ätherlöslichen Destillationsprodukten aus 22 Monate alten Magermilchreinkulturen zweier Varietäten des Bacillus nobilis (Varietät A und Varietät R) isolierten die Verff. im Sommer 1902 eine geringe Menge einer schneeweißen, strahlig-krystallinischen Substanz von scharfem und recht charakteristischem Geruche. Diese Substanz erwies sich bei der weiteren Prüfung als ein höchst interessantes flüchtiges Alkaloid von folgenden Eigenschaften: Leicht löslich war es in Alkohol, Aether und verdünnten Säuren. In Wasser von gewöhnlicher Temperatur war es schwer löslich. Nicht löslich erwies es sich in Natron- und Kalilauge von stärkerer Konzentration. Auf Ammoniakzusatz schien Molekularumlagerung zu erfolgen, indem 1—2 mm lange Nadeln auftraten. — Die Alkaloidreaktionen gab es mit folgendem Resultate:

1) Phosphormolybdänsäure erzeugt eine ziemlich voluminöse kanariengelbe Fällung.

2) Phosphorwolframsäure ruft einen weißen Niederschlag hervor, der sich im Ueberschusse des Fällungsmittels rasch löst.

3) Mit Kaliumquecksilberjodidlösung entstand ein starker, aus langen Nadeln bestehender, schwefelgelber Niederschlag.

4) Goldchlorid fällt einen zitronengelben Niederschlag aus, der nach ca. $^1/_4$ Stunde metallisches Gold ausscheidet.

5) Mit Platinchlorid entsteht kein Niederschlag.

6) Tannin ruft ebenfalls keine Fällung hervor.

7) Nur konzentrierte Pikrinsäurelösungen bringen einen reichlichen, aus gelben, säulenförmigen Krystallen bestehenden Niederschlag hervor. Aus Oxalsäurelösungen verflüchtigt es sich beim Destillieren.

Dieses flüchtige Alkaloid erweist sich somit als eine recht schwache Base. Bei Zimmertemperatur unter einer Glasglocke aufbewahrt, verflüchtigen sich mehrere Milligramme dieser Substanz im Laufe von ca. 34 Stunden bis auf eben noch wahrnehmbare Spuren. Weitere Untersuchungen über die chemische Natur dieser Substanz, sowie über die physiologischen Wirkungen behalten sich die Verff. vor.

Mit Rücksicht darauf, daß es ein Stoffwechselprodukt von Bakterien der Tyrothrix-Gruppe vorstellt, schlagen die Verff. für dasselbe den Namen Tyrothrixin vor.

Mit Rücksicht auf die zahlreichen, neuerdings auch in der Käsereischule zu Doren erhaltenen günstigen Resultate bei der Verwendung von Bacillus nobilis-Reinkulturen zur Emmentalerkäse-Fabrikation

stehen die Verff. natürlich immer noch auf dem Standpunkte Duclauxs: in den Bakterien vom Tyrothrix-Typus die hauptsächlichsten Reifungserreger der Käse vom Emmentalercharakter zu erblicken. Es ergab sich somit hierdurch für sie ein neuer (chemischer) Standpunkt zur Prüfung dieser Hypothese. Ein eventuelles Auffinden dieses oder eines ähnlichen flüchtigen Alkaloides im Emmentalerkäse mußte die erwähnte Hypothese gewaltig stützen. In einem vom Kommerzialrat Josef Wild gelieferten $1^3/_4$ Jahre alten tadellosen Original-Emmentaler Käse wurde tatsächlich eine dem Tyrothrixin äußerst ähnliche (vielleicht sogar mit ihm identische) flüchtige Substanz von basischen Eigenschaften aufgefunden. Die Randschichten lieferten mehr Ausbeute als die Innenmasse des Käses. Sonst war begreiflicherweise die Ausbeute nur gering. Von den ausgeführten 3 Hauptreaktionen: 1), 3) und 5) stimmten Reaktion No. 1 und 5 vollkommen überein mit jener des Tyrothrixins, während die Reaktion No. 3 insofern eine Abweichung zeigte, als sich neben dem gelben Niederschlag eine geringe Menge einer dunkelfarbigen Substanz (Jod?) vorfand.

Die Verff. erörtern des weiteren die Umstände, unter welchen aus dem Reagens (Kaliumquecksilberjodid) Jod abgeschieden werden kann. Sie schließen mit dem Hinweise auf die Wichtigkeit, welche das weitere Studium dieser bisher im Hartkäse unbekannten flüchtigen, basischen Substanzen für die Milchwirtschaft, die Chemie und die Physiologie haben dürfte und geben dem Wunsche Ausdruck, daß speziell Chemiker vom Fache ihr Interesse diesem interessanten und aussichtsreichen Arbeitsgebiete zuwenden mögen. L. Adametz (Wien).

Löhnis, Die Bedeutung des Stickstoffs der Luft und des Bodens für die Pflanzenerzeugung auf dem Felde. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 98.)

Verf. widerspricht einigen Behauptungen Pfeiffers[1]), vor allem derjenigen, daß alle Erfolge, die durch Ausnutzung der stickstoffsammelnden Tätigkeit gewisser, neuerdings entdeckter Bodenbakterien erzielt sein sollen, auch anders gedeutet werden können. Er weist darauf hin, daß bei den Rothamsteder Versuchen, bei welchen seit 1852 ewiger Weizenbau getrieben wird, nicht nur die Ernten der ohne Stickstoff belassenen Parzellen, sondern auch die Erträge der mit Stickstoff gedüngten gesunken seien, daß dieser Rückgang demnach nicht durch eine Verminderung der Stickstoffvorräte des Bodens erklärt werden kann oder wenigstens nicht so erklärt werden braucht. Aus diesen Versuchen und manchen an anderen Orten gemachten Erfahrungen folgt vielmehr nur, daß ausschließlicher Weizenbau auch bei reichlicher Stickstoffdüngung auf die Dauer nicht getrieben werden kann.

Allerdings wird man niemals den ganzen in den Ernten gewonnenen Stickstoff auf die Tätigkeit der stickstoffsammelnden Bakterien zurückführen können, wohl sprechen aber zahlreiche Beobachtungen dafür, daß ein Teil desselben von solchen Organismen im Boden festgelegt und den Pflanzen zugänglich gemacht wird. Löhnis warnt die praktische Landwirtschaft mit vollem Recht vor zu weitgehenden Erwartungen hinsichtlich der Nutzbarmachung der stickstoffsammelnden Tätigkeit mancher neuerdings bekannt gewordener Gruppen von Bodenorganismen, er weist aber darauf hin, daß die von Pfeiffer über diese Vorgänge und die

1) Pfeiffer, Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau. (Ref. siehe diese Zeitschr. Bd. XIII. p. 650.)

damit zusammenhängenden Fragen der Brachhaltung und des Raubbaues geäußerten Ansichten nur auf „vorläufig unbeweisbaren Erwägungen und Annahmen“ beruhen, daher nicht mit so großer Schärfe hätten ausgesprochen werden sollen, wie es in der Pfeifferschen Abhandlung geschah. Vogel (Posen).

Löhnis, Die Bildung und die Zersetzung des Salpeters in der Ackererde. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 86.)

Verf. legt die neueren Ansichten über Bildung und Zersetzung von Salpeter im Boden dar unter besonderer Rücksichtnahme auf die für die praktische Landwirtschaft aus diesen Vorgängen zu ziehenden Schlüsse. Er betont, daß in der Praxis die Denitrifikationsgefahr nur eine geringe sei, daß die nicht selten, vor allem bei Gefäßversuchen, beobachtete ungünstige Wirkung von Stroh oder frischem Stalldünger für sich allein oder in Verbindung mit einer Salpeterdüngung nicht durch eine Förderung der Salpeterzersetzung zu erklären sei, und daß die bei solchen Versuchen eingehaltenen Bedingungen keineswegs auf die Verhältnisse der Praxis übertragen werden können. Die in den angeführten Fällen beobachtete schlechte Stickstoffwirkung ist im wesentlichen auf die durch Bakterien und Schimmelpilze bewirkte Umwandlung des löslichen Stickstoffs in unlöslichen Eiweißstickstoff zurückzuführen, dieser Nährstoff bleibt also erhalten, jedoch in einer für die Pflanzen nicht direkt aufnehmbaren Form. Wenn man die fraglichen Vorgänge von diesem Standpunkte aus betrachtet, dann kann auch die von Winogradsky aufgestellte Hypothese nicht aufrecht erhalten werden, daß die Gefahr der Denitrifikation deshalb gering sei, weil die hierbei beteiligten Bakterien ihre Wirkung nur auf Kosten der organischen Substanz ausüben können, die Salpeterbildner aber gegen dieselbe sehr empfindlich sind, daher also die Salpeterbildung erst dann stattfindet, wenn die organischen Substanzen aufgezehrt und damit die Bedingungen für eine Vermehrung der Denitrifikationsbakterien nicht mehr gegeben sind.

Vogel (Posen).

Stutzer und **Rothe**, Die Wirkung einiger Mikroorganismen des Bodens auf schwefelsaures Ammoniak und auf Salpeter. (Fühlings landw. Ztg. 1904. p. 629.)

Der von Wagner bei umfangreichen Felddüngungsversuchen ermittelte Wirkungswert von Ammoniakstickstoff blieb hinter der bei Gefäßversuchen hervorgetretenen Düngewirkung der Ammoniaksalze wesentlich zurück. Die Ausnutzung des Ammoniakstickstoffes betrug bei Versuchen in Vegetationsgefäßen 94 Proz., auf freiem Felde dagegen nur 70 Proz. von derjenigen des Salpeterstickstoffs. Wagner erklärt diese Ergebnisse durch Stickstoffverluste infolge Ammoniakverdunstung und betont, daß die Bildung des flüchtigen Ammoniaks in einem bestimmten Verhältnis zum Gehalt der Böden an kohlensaurem Kalk steht, derart, daß die Düngewirkung der Ammoniaksalze auf kalkreichen Böden eine geringere ist als auf kalkarmen.

Die Verff. sind nun der Ansicht, daß die geringere Wirkung des Ammoniakstickstoffs auf freiem Felde zum Teil auch auf eine durch Bodenorganismen bewirkte Festlegung des löslichen Ammoniakstickstoffs in Form von Pilzeiweiß zurückzuführen sei. Es konnte experimentell festgestellt werden, daß Reinkulturen verschiedener allgemein verbreiteter Bodenbewohner, z. B. Penicillium glaucum, Asper-

gillus glaucus, Bac. prodigiosus, Bac. subtilis, Streptothrix odorifera, bei Gegenwart von kohlensaurem Kalk in der gleichen Zeit mehr Ammoniakstickstoff in unlösliche Form überführen als Salpeterstickstoff. Vogel (Posen).

Wohltmann und **Schneider**, Die Einwirkung von Brache und Erbsenbau auf den Stickstoffumsatz im Boden und die Entwickelung des Weizens. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 102.)

Durch die Untersuchungen der Verff. sollte der Unterschied in der Wirkung zwischen Brache und Erbsenbau auf die chemische und physikalische Beschaffenheit des schweren Lehmbodens und auf das Wachstum der nachfolgenden Früchte aufgeklärt werden. Eine deutliche Verschiedenheit wiesen die im genannten Sinne behandelten Versuchsparzellen hinsichtlich ihrer physikalischen Beschaffenheit im Herbst vor und nach der Bestellung mit Weizen auf. Der gebrachte Acker war mürbe, krümelig, weich und gleichmäßig feucht, der Erbsenboden dagegen sowohl oberflächlich wie auch im Untergrund hart und trocken.

In den 3 Jahren, über welche sich die Versuche erstrecken, war in den gebrachten Böden ein deutlicher Mehrgehalt an Salpeterstickstoff gegenüber den mit Erbsen bestandenen nachzuweisen. Im Gehalt an Ammoniakstickstoff unterschied sich der Bracheboden dagegen nicht erkennbar von dem der Erbsenstoppel.

Die nach Brache angebauten Weizensorten ergaben, wenn sie nicht infolge zu üppiger Entwickelung zum Lagern kamen, in der Mehrzahl der Fälle höhere Erträge als die nach Erbsen angebauten.

Vogel (Posen).

Nobbe und **Richter**, Ueber die Behandlung des Bodens mit Aether, Schwefelkohlenstoff, Chloroform, Benzol und Wasserstoffsuperoxyd und deren Wirkung auf das Wachstum der Pflanzen. (Die landw. Versuchs-Stationen. Bd. LX. 1904. p. 433.)

Die Verff. behandelten mit Erbsenbakterien geimpfte Erde mit Wasserstoffsuperoxyd und Aether und verglichen alsdann das Wachstum von Erbsen in diesen Erden mit dem in unbehandeltem und durch Hitze sterilisiertem Boden. Es ergab sich, daß die genannten chemischen Mittel keine Abtötung der Knöllchenbakterien bewirkt, sondern deren Entwickelung eher günstig beeinflußt hatten. Eine Aetheremulsion ($^1/_2$ Aether + $^1/_2$ Wasser) hatte in einem Falle die Ernteerträge um 41,5 Proz. erhöht und die Knöllchen zu außerordentlich üppiger Entwickelung gebracht. Die wachtumsfördernde Wirkung des Aethers trat besonders deutlich während der zeitigeren Entwickelungsperiode hervor, der Mehrertrag an Trockensubstanz betrug bei zeitig geernteten Pflanzen 85,7 Proz. gegenüber unbehandelt.

Bei weiteren Versuchen mit Hafer als Versuchspflanze wurde eine Behandlung der Erde mit Aether, Schwefelkohlenstoff, Chloroform und Benzol vorgenommen und in allen Fällen ein erheblicher Mehrertrag gegenüber unbehandelt erzielt. Wird der mittlere Ertrag an Trockensubstanz der nicht behandelten Gefäße = 100 gesetzt, dann betrugen bei einer Versuchsreihe die Ernten 131 (Aether), 142 (Chloroform), 156 (Benzol) und 158 (Schwefelkohlenstoff).

Eine Aufschließung der Bodenbestandteile durch die genannten Re-

agentien konnte nicht nachgewiesen werden, die Verff. neigen zu der Annahme, daß eine direkte Reizwirkung geringer, in dem Boden verbliebener Mengen der Zusatzstoffe bezw. von Zersetzungsprodukten derselben auf die wachsende Pflanze stattfindet. Vogel (Posen).

Schneidewind, Zur Frage der Stalldüngerkonservierung. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 73.)

Verf. beobachtete, daß die Stickstoffverluste im Stalldünger wesentlich geringer sind, wenn derselbe nicht direkt auf die Sohle der Düngerstätte gebracht, sondern auf eine bereits dort befindliche Lage älteren, in Gärung befindlichen Düngers aufgeschichtet wird. Bei einem im größeren Maßstabe ausgeführten Versuche betrugen die Stickstoffverluste in je 16 Zentner Stalldünger bei 3 Monate langer Lagerung in den Düngergruben:

	Verlust an Stickstoff	
	kg	Proz.
Bei gewöhnlicher Behandlung	1,401	30,31
Auf Unterlage von altem Dünger	0,783	16,94

„Demnach waren also die Verluste durch diese Methode der Konservierung um fast die Hälfte einschließlich des zur Konservierung verwendeten alten Stalldüngers vermindert worden. Auf rund 16 Zentner Stalldünger kam ein Gewinn von 1,236 Pfund Stickstoff."

Das konservierende Prinzip bei diesem Vorgange ist, wie Verf. in Uebereinstimmung mit den zuerst von Déherain hierüber gemachten Angaben feststellen konnte, die aus dem gärenden Dünger sich entwickelnde Kohlensäure. Dieselbe bindet das flüchtige Ammoniak, bezw. sie verhindert die Dissoziation des gebildeten kohlensauren Ammoniaks.

Auf die erwähnte einfache Weise werden dem lagernden Dünger von Anfang an so reichliche Kohlensäuremengen zugeführt, daß die Verluste an dem wertvollen und teuren Stickstoff stark vermindert und so der Landwirtschaft bedeutende Werte erhalten werden können.

Vogel (Posen).

Busse, W., Reisebericht der pflanzenpathologischen Expedition des kolonialwirtschaftlichen Komitees nach Westafrika. (Der Tropenpflanzer. 1905. No. 1.)

Die Zentrale für die Forschungen des Autors war Viktoria in Kamerun. Besucht und in den Kreis der Beobachtungen gezogen wurden weiter: Kriegsschiffhafen, Campo, Kribi, Edea und Duala; ferner Molive, Bibundi, Idenau-Sanje, Oechelhausen, Debundja und Isongo, endlich Mokundange und Lome.

Zur Beobachtung kamen besonders Schädlinge der Kakaokulturen, dann auch solche der Kautschukpflanzen.

Krankheiten pflanzlichen Ursprunges am Kakao:

1) Die Braunfäule der Früchte, auch als Schwarzfleckigkeit bezeichnet, ist die verbreitetste und verhängnisvollste der dortigen Pflanzenkrankheiten, und kann bis zu 75 Proz. Verlust der Früchte bringen. Ihr Veranlasser ist eine Phytophthora, nahe verwandt mit Ph. omnivora de By., die an Früchten jeder Altersstufe auftritt, sich aber auch auf der Rinde der Kakaobäume findet. Sie durchsetzt unter gleichzeitiger Bräunung der betreffenden Partieen Fruchtschale, Samenleisten und Pulpa und kann sowohl von der Fruchtschale, wie von den Samenleisten in die Samen übertreten. Die von dem Schmarotzer verursachte Gewebeveränderung muß tiefgreifend sein, da die Gärung des Kakaos bei Gegen-

wart größerer Mengen von Phytophthora-Bohnen erheblich verlangsamt wird. Die Verbreitung der Krankheit wird durch mäßig starke Regengüsse und durch die die Früchte anstechenden Insekten, die auch den Schädling verschleppen, begünstigt; sehr heftige Regenfälle spülen dagegen die Phytophthora von der Fruchtschale ab. Zur Bekämpfung ist zunächst wichtig, daß die Ueberreste braunfauler Früchte sofort unschädlich gemacht werden. Einige Kakaobastarde scheinen übrigens immu gegen die Krankheit zu sein.

2) Unter ähnlichen Erscheinungen wie die vorbesprochene Krankheit tritt Colleotrichum incarnatum auf, scheint aber besonders junge Früchte zu befallen und ist überhaupt nicht so wichtig. Von der Phytophthora unterscheidet es sich besonders charakteristisch durch die Fruktifikation.

3) Fusarium theobromae ist nur Gelegenheitsparasit.

4) Der noch nicht näher festgestellte „Wurzelpilz", ein Hymenomycet, ist nächst der Braunfäule besonders gefährlich. Das Charakteristische der Krankheit besteht darin, daß der Wurzelkörper durch vom Mark ausgehende, radial verlaufende Pilzwucherungen zerklüftet wird. Von der Wurzel geht die Krankheit in den Stamm über; sie macht sich übrigens erst in vorgeschrittenem Stadium bemerkbar.

Tierische Schädlinge am Kakao:

1) Als wichtigster ist hier die Rindenwanze zu nennen, eine Capside aus der nächsten Verwandtschaft der Gattung Pachypeltis Sign. Gefährlich wird sie besonders in jungen Kakaobeständen, wo sie junge Triebe ansticht und durch den Entzug der Säfte entkräftet. Ihre Tätigkeit ist noch nach Jahren an der üppigen Bildung schülferiger Borke zu erkennen. Bei der Gefährlichkeit des Tieres kann es als ein Glück bezeichnet werden, daß die Rindenwanze sehr empfindlich ist, auch von einer größeren, hellbraunen Ameisenart erbittert bekämpft wird.

2) Engerlinge machen sich stellenweise unangenehm bemerkbar.

Tierische Schädlinge an Kautschukpflanzen:

1) Die Raupe von Glyphodes ocellata, welche durch Bespritzung mit Aufschwemmungen von Schweinfurter Grün leicht zu bekämpfen ist.

2) Sehr verheerend wirkt auf Castilloa der Castilloa-Bockkäfer, Inesida leprosa, der die Bäume durch seine Bohrgänge zerstört. Versuche mit Einspritzen von Terpentinöl oder Schwefelkohlenstoff in die frischen Bohrgänge sind im Gange.

Bezüglich verschiedener anderer Fragen wird auf spätere Berichte verwiesen. Paul Ehrenberg (Breslau).

Jungner, J. R., Ueber den klimatisch-biologischen Zusammenhang einer Reihe Getreidekrankheiten während der letzten Jahre. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XIV. 1904. Heft 6.)

Die umfangreiche, 16 kleinere und größere Abschnitte enthaltende Arbeit kann hier nur in ihren wichtigsten Momenten besprochen werden. Sonst ist nur die Ueberschrift der Kapitel gegeben. Die Arbeit erstreckt sich besonders auf in der Provinz Posen gemachte Beobachtungen.

1) Einleitung. Verf. geht von der Anschauung aus, daß jeder Krankheitserreger, mag er den Bakterien, Pilzen, Würmern, Insekten u. s. w. angehören, immer einmal in seinem Leben ein Stadium ge-

ringerer Widerstandsfähigkeit durchläuft. Dies zu finden, dürfte auch besonders für die Abwehr der Schädlinge von größter Bedeutung sein.

2) Die Frostbeschädigung im Winter 1900—1901. Starker Frost bei Trockenheit schädigte die tierischen Schädlinge wenig oder gar nicht, richtete aber unter den Getreidepflanzen große Verwüstungen an. Beachtenswert erscheint im Zusammenhang hiermit die Anschauung des Verf., daß Frost zwar manchmal viel Insekten und andere Schädlinge töte, jedoch das Getreide in größerem Maße schädige. Besonders sei es auch irrig, nach stärkerem Frost durch den Winter gekommene Pflanzen als besonders gegen Krankheit widerstandsfähig anzusehen. Sie wären im Gegenteil vielfach schon innerlich krank oder erkrankten nicht selten später unter der Menge der sie umgebenden, von und in den vom Frost mehr geschädigten Pflanzen lebenden Feinde.

3) Beziehungen zwischen Frost, Dürre und Cikaden. Frost und Dürre schädigt Cikaden wenig, viel Regen vernichtet sie.

4) Der Haupterreger der Getreidebeschädigungen im Sommer und im Herbst war die Zwergcikade. Die Cikade schädigt außer durch Eierlegen besonders durch Aussaugen und Verwunden des jungen Zellgewebes, wobei die Erkrankung der einzelnen Pflanze bei Auftreten der Larve stärker ist, da diese, ungeflügelt, nur kleinere Bezirke angreift.

5) Andere Cikaden als Begleiter der Zwergcikade.

6) Gemeinschaftliches Auftreten der Zwergcikade, der Blattläuse und der Fritfliege. Es schließt sich oft an die Cikadenschädigung eine weitere durch Frost, Insekten oder Pilze an.

7) Andere Begleiter der Blattläuse und Cikaden.

8) Beziehungen zwischen Frostschaden und dem Auftreten von Fliegen, Aelchen und Thrips. Insekten, die sich in verschiedenen Entwickelungsstadien befinden, leiden nicht so sehr von Feinden oder ungünstigem Klima, als wenn sie nur in einem Stadium der Entwickelung vorhanden sind.

9) Im Sommer 1902 traten die Fliegen, besonders die Fritfliege, als Haupterreger auf. Es genügen der Fritfliege 7—9 warme Tage mit Sonnenschein, um sich mitten im Winter um das 15-fache vermehren zu können. Dies erklärt das massenweise Auftreten der Fliege im Frühjahr, wo sie im Herbst kaum bemerkt worden war.

10) Die Hessenfliege (Cecidomyia destructor Say.) und die Halmfliege (Chlorops taeniopus Meig.). Die Hessenfliege ist gegen Regen sehr empfindlich.

11) Ueber das gemeinschaftliche Auftreten der Fritfliege und des Stockälchens. Die Fliegen verschleppen die Stockälchen, welche zeitweise in ihrer Leibeshöhle in großen Mengen zu finden sind. Die Untersuchung hierüber ist indes noch nicht abgeschlossen.

12) Im Herbst 1902 war das Stockälchen der Haupterreger der Getreideschädigung. Bei nasser Witterung übertrifft das Stockälchen an Vermehrung die Fliegen.

13) Die Getreideblumenfliege und ihre Begleiter.

14) Frost und Pilze am Getreide. Nasser Winter und Frühjahr begünstigte die Getreidepilze, zumal den Roggenhalmbrecher (Leptosphaeria herpotrichoides de Not.). Permanente Verseuchung einzelner Feldstellen, zumal die Erscheinung der sogenannten „verseuchten Hügel“ wird besonders durch die dem Frost und Wind ausgesetzte Lage der betreffenden Oertlichkeiten erklärt. Der Frostschädigung folgt Pilzwucherung, und da beide an den Orten sehr häufig ein-

treten, so werden immer neue Massen von Pilzhyphen und Sporen auf den Hügeln gezüchtet.

15) Ueber die Verbreitung der wichtigsten parasitischen Pilze und tierischen Parasiten des Getreides durch Wind und Regen, sowie durch tierische Schädlinge. Regen veranlaßt horizontale wie vertikale Verbreitung von Sporen und Konidien, nur ungewöhnlich starker spült ab. Teilweise kann für die Verbreitung der Regen durch das Sekret der Blattläuse ersetzt werden. Auch die Cikaden tragen in den Haaren ihrer Sprungbeine und des Hinterleibs oft Sporen umher, vielleicht ähnlich auch die Fritfliegen.

16) Blattläuse (Aphiden) und Pilze am Getreide. Das Sekret begünstigt vielfach das Wachstum der Pilze, ebenso wirken die in den Pflanzen hervorgebrachten Stichwunden.

Paul Ehrenberg (Breslau).

Neger, F., Ueber Förderung der Keimung von Pilzsporen durch Exhalationen von Pflanzenteilen. (Naturw. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft. Bd. II. 1904. p. 484—490.)

Die Ascosporen von Bulgaria polymorpha verlieren ihre Keimfähigkeit (besonders in reinem Wasser) sehr bald, nachdem sie aus der Ascis ausgeschleudert worden sind. Sie erlangen dieselbe aber wieder, wenn dem Tropfen, in welchem sie suspendiert sind, ein Stückchen Eichenrinde oder Eichenholz (auch Buchenrinde) beigelegt wird. Eine kräftige Keimschlauchbildung stellte sich auch dann ein, wenn die Sporen in einen Tropfen Wasser gebracht wurden, in welchem nur kurze Zeit ein Stückchen Eichenrinde gelegen hatte. Ja, sogar die von Eichenrinde (auch Buchen- und Fichtenrinde) ausgehenden Exhalationen genügen als Reiz zur Keimschlauchbildung bei Sporen, welche sich in reinem Wasser vollkommen indifferent verhalten.

Die Sporen von Bulgaria polymorpha können bekanntlich in verschiedener Weise auskeimen. Entweder bilden sie einen dicken, kräftigen Keimschlauch, oder es wölbt sich das Endospor blasenartig vor, um hier an kurzen Stielchen längliche Konidien zu bilden.

Meist treten Konidienbildung und Keimschlauchbildung gemischt auf, an Sporen aus einem und demselben Apothecium und in einer und derselben Nährlösung. Wodurch die eine oder andere Keimungsart bedingt wird, ist nicht bekannt. Bei den Versuchen des Verf. zeigte sich indessen, daß, wenn der von Eichenrinde ausgehende Reiz intensiv war (d. h. wenn das Rindenstückchen im Keimungstropfen lag), die Keimschlauchbildung vorherrschte oder ausschließlich zu beobachten war.

Wenn dagegen der keimungsbefördernde Reiz schwach war (bei Uebertragung der Exhalationen durch die Luft) wurden vorzugsweise oder ausschließlich Konidien gebildet. Neger (Eisenach).

Langenbeck, Düngung und Pflanzenkrankheiten. (Deutsche landw. Presse. 1904. No. 68.)

Für die Beurteilung der Frage, ob durch Anwendung gewisser Düngerarten bestimmte Pflanzenkrankheiten verhindert werden können, derart, daß an sich schwächliche Pflanzen durch die Zufuhr geeigneter Nährstoffe gekräftigt und widerstandsfähig werden bezw. ob es Düngemittel gibt, welche andererseits das Auftreten bestimmter Erkrankungen begünstigen, liegen eine Reihe von Beobachtungen vor, welche Verf. kurz mitteilt.

Kalk und Kainit sind erfolgreich angewendet worden bei der Vertilgung der grauen Ackerschnecke und der Nematoden, ersterer hat auch bei der Bekämpfung des Wurzelbrandes der Rüben und bei Plasmodiophora brassicae verschiedentlich gute Dienste geleistet.

Die phosphorsäurehaltigen Düngemittel sollen nach einigen Beobachtungen den Rosterkrankungen des Getreides entgegenwirken.

Daß Mineraldüngungen, besonders Kalidüngung, das Austrocknen leichter Sandböden erschweren, ist bekannt. Die auf solchen Böden heranwachsenden Pflanzen werden demnach trockene Zeiten besser überstehen als ungedüngte.

Gute Erfolge sind bei der Bekämpfung des Getreideblasenfußes (Thrips cerealium) durch zweckmäßige Düngung erzielt worden, indem hierdurch die Pflanzen zu schnellerer Entwickelung angeregt werden konnten, die Aehren zur Zeit des Befalls durch den Thrips den Blattscheiden bereits entwachsen waren und daher von dem Insekt nicht mehr geschädigt wurden.

Für die Verbreitung mancher Pflanzenkrankheiten sind umgekehrt die Düngemittel nicht selten verantwortlich gemacht worden. So soll der Stalldünger zuweilen die Rost- und Brandkrankheiten des Getreides, die Kartoffelfäule, die Schwarzbeinigkeit der Kartoffeln und die Schorferkrankungen derselben befördern. Der Scheideschlamm wird als gelegentlicher Ueberträger von Nematoden und der Herz- und Trockenfäule der Rüben angesehen. Bei Chilisalpeter-Kopfdüngungen ist zuweilen starker Befall mit Rost infolge der verlängerten Vegetations- und damit Ansteckungszeit beobachtet worden, auch auf die Herz- und Trockenfäule der Rüben und die Kartoffelfäule soll der Salpeter unter Umständen fördernd einwirken. Vogel (Posen).

Hiltner, L. und **Peters, L.**, Untersuchungen über die Keimlingskrankheiten der Zucker- und Runkelrüben. (Arbeiten a. d. Biolog. Abtlg. f. Land- u. Forstwirtsch. am Kais. Gesundheitsamte. Bd. IV. 1904. p. 207—253.)

Durch zahlreiche Topf- und Feldversuche bemühten sich die Verf., den Einfluß des Bodens und des Gesundheitszustandes der Rübenknäule auf das Erkranken der jugendlichen Rübenpflänzchen und dabei namentlich die Wirkung der Beizung der Rübenknäule mit verschiedenen Stoffen kennen zu lernen. Die Ergebnisse dieser nicht in allen Fällen von Erfolg begleiteten Versuche sind folgende: Alle Beobachtungen sprechen für einen innigen Zusammenhang zwischen dem Wurzelbrand der Rübenpflänzchen und der Herz- und Trockenfäule. Der Wurzelbrand, der das Umfallen der aufgelaufenen Pflänzchen oder doch mindestens eine Erkrankung der Wurzeln und oft auch des hypokotylen Gliedes zur Folge hat, ist auf Organismenwirkung zurückzuführen und kann sowohl von den Knäulen als auch von der Erde ausgehen. Im schlimmsten Falle können sogar bereits die Rübensamen durch Bodenorganismen vor dem Auskeimen vernichtet werden. Im Zusammenhang mit Bodenorganismen steht ferner die bei ungünstigen Witterungsverhältnissen auftretende Herz- und Trockenfäule, und zwar erfolgt die Infektion hierzu auch bereits im Keimlingsalter der Rüben. Sofern es gelingt, die Infektion der Rübenkeimlinge im Boden durch eine Vorbehandlung der Rübenknäule unmöglich zu machen, so kann die Herz- und Trockenfäule verhindert werden.

Da es aber nicht möglich war, mit Reinkulturen der zumeist als Er-

reger der Erkrankung von Rübenkeimlingen angesehenen Organismen (Phoma betae und Bacillus mycoides) die charakteristischen Krankheitserscheinungen hervorzurufen, so ist anzunehmen, daß diese Organismen an sich nicht die Fähigkeit haben, die Rübenwurzeln zur Erkrankung zu bringen. Erst dadurch, daß die Wurzeln durch den Einfluß bestimmter Stoffe, namentlich von Oxalaten, in ihrer Widerstandsfähigkeit geschwächt werden, werden sie sonst harmlosen Saprophyten zugänglich. Diese Stoffe sind die Produkte einer Zersetzung, welche die den Knäulen anhaftenden Kelchblättchen und die sonstigen, die rauhe Oberfläche der Knäule bedingenden Teile durchmachen, und zwar entweder schon auf dem Felde bei andauernder schlechter Witterung zur Erntezeit oder erst auf dem Lager, wenn die zu feucht eingebrachten Knäule sich etwas erwärmen. Durch das mehr und mehr sich einbürgernde Trocknen der geernteten Rübenknäule mittels besonderer Trockenvorrichtungen wird außer anderen Vorteilen auch das Unterbleiben solcher Zersetzungsvorgänge erreicht.

Als weiteres Mittel, der Entstehung des Wurzelbrandes, der Herz- und Trockenfäule und mangelhaftem Auflaufen vorzubeugen, empfehlen die Verf. Kandierung der auszusäenden, vorher angefeuchteten Rübenknäule mit kohlensaurem Kalk. Das denselben Zweck verfolgende Beizen der Rübenknäule mit Schwefelsäure ist in gesunder, wenig wurzelbrandige Pflanzen liefernder Erde zwecklos und nur bei Hartschaligkeit der Rübensaat vorteilhaft. In kranker, viele wurzelbrandige Pflanzen aufweisender Erde ist das Schwefelsäureverfahren zu vermeiden. Das Auflaufen der Pflanzen wird hier dadurch geschädigt, weil die in den Knäulen enthaltenen Samen infolge der Beizung zu frühzeitig von der schützenden Hülle entblößt werden und deshalb leicht der Wirkung von Bodenorganismen zum Opfer fallen. Außerdem wirkt die Schwefelsäure, wenn sie nicht ganz sorgfältig entfernt wird, schädlich auf die sich entwickelnden Keime ein. Das Schwefelsäureverfahren muß deshalb, sofern es für die Praxis brauchbar werden und den so behandelten Rübenknäulen eine Ueberlegenheit verschaffen soll, dahin abgeändert werden, daß zur Neutralisierung der Schwefelsäure nicht das ebenfalls schädlich wirkende Kalkwasser, sondern ein Mittel verwendet wird, das, auch wenn es in großem Ueberschuß den Knäulen anhaften bleibt, keine schädlichen Wirkungen auf die Keimlinge ausübt. Als solches Mittel stellt sich der kohlensaure Kalk dar, dessen Anwendung auch das umständliche und in seinen Erfolgen recht unsichere Vorkeimen der gebeizten Knäule durchaus überflüssig macht. Beck (Tharandt).

v. Tubeuf, Wirrzöpfe und Holzkröpfe der Weiden. (Naturwiss. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. II. Jahrg. 1904. p. 330—337.)

Die Basis der aus weiblichen Blüten bei Salix Caprea und aus Sproßknospen bei Salix alba und anderen Weiden entstandenen Wirrzöpfe entwickelt sich häufig zu knollenförmigen Wucherungen, die auch nach dem Abfallen der vertrockneten Wirrzöpfe noch weiter wachsen und dann bisweilen Kopfgröße erreichen. Die äußeren Kronenteile mancher Weiden sind deshalb von Wirrzöpfen und kleinen Zweigknöllchen bedeckt, während sich an den stärkeren Aesten faust- und kopfgroße Holzkröpfe befinden. Der Umstand aber, daß man auch Weiden mit Knollenbildungen ohne Wirrzöpfe findet, weist darauf hin, daß die Bildung von Holzkröpfen nicht immer auf Wirrzöpfe zurückzuführen ist. Irgendwelche Pilze scheinen dabei jedoch auch nicht in Betracht zu kommen. Die

von Temme dafür haftbar gemachten nebenbei falsch bestimmten Pilze Pestalozzia gongrogena und Diplodia gongrogena scheinen nur Saprophyten zu sein, welche die abgestorbenen Parenchymschichten der Holzkröpfe bewohnen. Beck (Tharandt).

Reuter, E., Hexenbesen und Eriophyiden. (Meddel. Soc. Fauna et Flora Fennica. Jahrg. XXX. 1904. p. 34—47.)

Ein Beitrag zur Lösung der Frage, ob an der Entstehung von Hexenbesen auf gewissen Bäumen die Gallmilben allein schuld sind oder wenigstens beteiligt sein können oder ob jene Mißbildungen nur durch Pilze (Thaphrina) verursacht werden; ersteres haben englische Beobachter (Ormerod, Murray, Connold) angenommen, doch ist der Beweis dafür nicht einwandsfrei geliefert worden, und bei der Schwierigkeit der Infektionsversuche auch nicht sehr aussichtsreich. Jedoch erwiesen umfangreiche Beobachtungen des Verf. an Hexenbesen der Birke ein auffallend reiches Vorkommen eigentümlicher, von Eriophyes rudis (Can.) verursachter Knospendeformationen darin. Da jedoch gleichzeitig Spuren von perennierendem Mycel der Taphrina vorhanden waren, gestattet sich Verf. nur den vorsichtigen Schluß, daß die Birkenhexenbesen öfters durch ein Zusammenwirken des Pilzes und der Gallmilbe zu stande kommen. Unwahrscheinlich ist es jedoch nicht, daß letztere auch einmal die alleinige Ursache sein kann, da die ähnlichen Mißbildungen an der Hasel von E. avellanae selbständig hervorgerufen werden. — Hierzu sei bemerkt, daß v. Tubeuf 1899, freilich nur in einem Flugblatte, E. loewi als Erreger der Syringenhexenbesen angegeben hat. Jacobi (Tharandt).

Schellenberg, H. C., Ueber das Vorkommen von Hypodermella Laricis v. Tubeuf. (Naturwiss. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. 1904. p. 369—371.)

Der durch kleine, meist in einer Längsreihe in der Mitte der Nadel angeordnete Apothecien und 4-sporige Schläuche von dem 8-sporigen, größere, unregelmäßig verteilte, etwas glänzende Apothecien aufweisenden Lophodermium Laricinum Duby leicht zu unterscheidende, durch v. Tubeuf bekannt gewordene Nadelpilz der Lärche findet sich nach den Beobachtungen des Verf. im Lärchengebiet der schweizerischen Alpen (Wallis, Gotthard, Oberengadin) allgemein verbreitet, fehlt aber in den Lärchenbeständen des schweizerischen Mittellandes. Die Infektion erfolgt, nachdem die jungen Nadeln ausgewachsen sind, bald nach der Schneeschmelze und führt zur Bräunung sämtlicher Nadeln einzelner, zwischen grünen Nadelbüscheln stehender Kurztriebe. Seltener sind an einem Triebe grüne und erkrankte Nadeln gemengt. Die an den unteren Zweigen der Bäume und an besonders feuchten Oertlichkeiten in der Regel stärker auftretende Krankheit ist an weitaus den meisten Orten ungefährlich. Beck (Tharandt).

Gieseler, Der Spannerfraß in der Letzlinger Heide 1899—1903. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen. Jahrg. XXXVI. 1904. p. 432 bis 445.)

Ueber Entstehung, Verlauf und wirtschaftliche Folgen des jüngsten großen Spannerfraßes in der Letzlinger Heide, sowie anzuempfehlende Maßnahmen zur Verhütung ähnlicher Schäden teilt G. folgendes mit. Obwohl Bupalus piniarius nach den Probesammlungen in gewisser

Menge stets in der Heide einheimisch gewesen ist, zeigten die Befunde zum ersten Male im Herbst 1898 in deren südlichem Teile (Oberförsterei Planken) ein Anwachsen des Bestandes; zu seiner Massenvermehrung gaben die sehr trockenen Sommer 1899—1901 die Bedingungen her, so daß im letzteren Jahre der Höhepunkt des Fraßes für die ganze Heide erreicht wurde. Erst 1902 brachten natürliche Feinde, nämlich ein durchgängig kalter und regnerischer Sommer und die Schmarotzerinsekten das Uebel zum Stillstande, worauf in den beiden Nachjahren das Erlöschen eingetreten ist. Die Folge dieser Kalamität war das Eingehen fast aller derjenigen älteren, großenteils sogar das der jugendlichen Bestände, die 2mal kahl gefressen worden waren, danach die Notwendigkeit, praktisch den südlichen Teil der Heide abzutreiben; in dem stehenbleibenden haben sich die Waldgärtner besorgniserregend vermehrt. Verf. erörtert die Annahmen über die Ursachen der Massenvermehrung und neigt dazu, an Stelle der Ausbreitung von wenigen Herden aus vielmehr eine allgemeine, gleichzeitige Entwickelung vorauszusetzen, ohne freilich überzeugende Gründe dafür beizubringen. Von den versuchten Bekämpfungsverfahren hatte das Leimen nur den geringen Erfolg, daß etwa 1/4 aller Raupen abgefangen wurden. Zur einzig wirksamen Bekämpfung der Raupen im Winterlager diente zunächst der Schweineintrieb; eine umfassende Wirkung scheiterte an der Größe der zu bewältigenden Fläche, für die 50000 Schweine nötig gewesen wären. Auch der in kleineren Verhältnissen bewährte Hühnereintrieb versagte deshalb. Wirklich durchgreifend für den Großbetrieb erwies sich nur die Streuentnahme. Verf. erörtert ausführlich die Gründe, warum diese bei den dortigen Verhältnissen keine Verschlechterung, sondern eine Hebung der Bodengüte herbeigeführt hat. Aus den gesammelten Erfahrungen zieht G. den Schluß, daß einem Spannerfraß durch wirtschaftliche Maßregeln nicht mit Erfolg vorzubeugen, er aber im Anfange durch Streuwerbung, Schweine- und Hühnereintrieb erfolgreich zu bekämpfen ist; dazu ist dringend erforderlich: Aufmerksamkeit der Revierbeamten, gewissenhaftes Probesuchen und sofortiges zweckmäßiges Eingreifen bei drohender Massenvermehrung.

Jacobi (Tharandt).

Heidrich, Beobachtungen und Bemerkungen über Nematus-Fraß. (Allgem. Forst- u. Jagdztg. Jahrg. LXXX. 1904. p. 281—283.)

Ueber den Umfang, den der Fraß der „kleinen Fichtenblattwespe“ (Nematus abietinus Cbr. und verwandte Arten) in den Niederungsrevieren der Leipziger Gegend genommen hat, und die Ursachen, die der Erscheinung zu Grunde liegen, spricht sich Forstmeister H. aus praktischer Erfahrung aus. Danach ist der Nematus-Fraß in vielen Fichtenrevieren zeitweilig oder dauernd, meist aber ohne merkliche Folgen, vorhanden; diese werden erst empfindlich, wenn der ganze Bestand chronischer Rauchvergiftung unterliegt, wie dies in neuerer Zeit in hohem Maße mit den Nadelwäldern in der Rauchzone der Industriezentren von Bitterfeld und Leipzig vor sich gegangen ist, namentlich in dem Zwickauer und mehr noch dem Naunhofer Staatsforstreviere. Die Abhängigkeit des Insektenschadens von der anderen Kalamität hat sich an zweitgenanntem Orte seit 1891 deutlich verfolgen lassen, und zwar derart, daß die zuerst chemisch geschädigten Bäume auch zuerst dem Insekt verfallen. Die Wirkung beider Einflüsse zeigen sich in rapider Abnahme des Massenzuwachses der Althölzer und des Höhenwuchses

überhaupt, also Herabsetzung des Nutzholzwertes. Kampfmittel gegen die Blattwespe kennt Verf. nicht, ebensowenig scheinen die insektenfressenden Vögel, z. B. Meisen, trotz reichlich gebotener Nistgelegenheit, dem Tiere Abbruch zu tun, was auf die widrigriechende Absonderung der Afterraupe zurückgeführt wird (Zwingerversuche können nicht hiergegen sprechen, da sich der Faktor „Langeweile“ bei Käfigvögeln schwer ausschalten läßt. Ref.). Dagegen fangen die Webspinnen im Frühjahr große Mengen schwärmender Wespen in ihren Netzen weg; die paradoxe Tatsache, daß in einem nassen Frühjahr, wie 1904, das sonst dem Insektenleben unzuträglich zu sein pflegt, N. abietinus besonders stark schwärmte, ergibt sich denn auch aus den Lebensgewohnheiten der Radspinnen, die bei regnerischem Wetter ihre Spinntätigkeit einstellen. Einzelne Fichten in Gärten ließen sich durch Ueberdecken mit Gaze von Ende März bis Mitte Mai wirksam vor dem Anfluge schützen. Da der Nematus-Fraß also ausgesprochen sekundär auftritt, gilt es, seine primäre Ursache, die Raucherkrankungen, einzuschränken, indem durch Feuchthaltung der Standorte die Empfänglichkeit der Fichte dafür herabgesetzt wird. Jedenfalls hält Verf. die Jahre der Fichtenwirtschaft in der Umgebung Leipzigs für gezählt, und es für geboten, durch die Zwischenstufe der Kiefernwirtschaft zu dem Anbau des — seiner Zeit künstlich ausgerotteten — Laubholzes zurückzukehren.

Jacobi (Tharandt).

Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

K. Agrikulturbotanische Anstalt in München.

Bericht über die Ergebnisse von Versuchen zur Bekämpfung des Weizensteinbrandes. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. II. Heft 11 u. 12.)

Zur Ausführung der Versuche führte die Erfahrung, daß der einheimische Weizen trotz aller Bekämpfungsversuche alljährlich überaus stark vom Brande befallen wird, wodurch ein weiterer Anbau desselben an vielen Orten kaum mehr in Betracht kommen könne. Aus der ersten, durch Landwirtschaftslehrer Alzheimer ausgeführten Versuchsreihe ging hervor, daß, während der ohnehin schon brandige Weizen zu 100 Proz. brandige Aehren lieferte, derselbe nach Anwendung des verbesserten Kühnschen Verfahrens vollkommen brandfrei blieb und ergab auch die Beizung mit Kupfervitriollösung ohne Nachbehandlung mit Kalk, die Formalinbeizung und das Kandieren der Saat mit Bordelaiser Brühe noch recht befriedigende Resultate. Das bloße Waschen der Samen mit warmem Wasser hatte nur eine geringe Verminderung des Brandes zur Folge und erwies sich auch die Terpentinbehandlung als unbrauchbar. Die zweite Versuchsreihe, ausgeführt durch Störmer, lieferte folgende Ergebnisse: Der Brand trat nach Brache ohne Stallmistdüngung erheblich stärker auf als nach Brache mit genannter Düngung. Die Behandlung mit Terpentinöl, warmem Wasser, Pepton und Traubenzucker lieferte wenig Erfolge, während die Inkrustierung mit Kalkmilch und die Anwendung der Bordelaiser Brühe auch hier befriedigender wirkten. Einen durchschlagenden Erfolg ergab nur die Beizung mit Kupfervitriol

und die Anwendung des Formalins; sehr gut hat sich auch das Heißwasserverfahren bewährt.

Als einfachstes und dabei in der Wirkung jeder anderen Behandlung mindestens gleichwertiges Verfahren wird die Formalinbehandlung hingestellt, die zugleich den Vorteil bietet, daß das behandelte Getreide auch für andere Zwecke noch brauchbar bleibt und sich die Kosten des Verfahrens auch nicht höher stellen als jene der Kupfervitriollösung. Im Kleinen wird eine 0,1-proz. Lösung genügen, während im Großen 0,2-proz. Lösungen angewendet werden müssen. Ueber diesbezügliche weitere Versuche wird späterhin berichtet werden.

Pósch (Grinád).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Wichmann, H., und **Zickes, H.**, Ein neues Verfahren zur Reinzüchtung von Hefe. (Allgem. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. Jahrg. XXXIII. 1905. No. 1.)

Die Verff. geben zunächst einen kurzen Ueberblick über die bisher bekannten Methoden der Reinzüchtung von Hefe von Hamen, Will, Lindner, van Laer und Schönfeld und berichten sodann über ein neues Verfahren. Dieses besteht in erster Linie in der Herstellung von Oberflächenkulturen durch Auftragen kleiner Tröpfchen einer entsprechend verdünnten Aufschlemmung von Hefe in Bierwürze auf erstarrte Würzegelatine. Die in dieser Weise aus quadrierten Deckgläschen hergestellten Tröpfchenplatten werden in bekannter Weise über eine Böttchersche Kammer oder auf einen hohlgeschliffenen Objektträger mit Vaselineverschluß gebracht. Die Verff. haben festgestellt, daß sich dieses Tröpfchenplattenverfahren zur Reinzucht fast aller Arten von Sproßpilzen gut eignet. Kausch (Charlottenburg).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Törnell, V., und **Morell, E.**, Vergleichende Untersuchungen einiger Desinfektionsmittel auf biersteinlösendes Vermögen. (Zeitschr. f. das ges. Brauwesen. Jahrg. XXVII. 1904. No. 48.)

Verff. haben festgestellt, daß Antiformin den Bierstein unter starker Gasentwickelung und Schaumbildung nach Art einer kräftigen Gärung löst, welche Wirkung auf seinen Gehalt an Chlor und Natronlauge zurückzuführen ist. Heiße Sodalösung, ebenso Pottasche, lösten von Bierstein der gleichen Art fast gar nichts. Durch Behandeln mit doppeltschwefligsaurem Kalk wird der Bierstein stärker und fester, worauf das schnellere Ueberziehen der Gärbottiche bei der Behandlung mit schwefligsaurem Kalk als bei derjenigen mit Wasser zurückzuführen ist. In noch höherem Maße wie der doppeltschwefligsaure Kalk wirkt die Kieselflußsäure (Montanin) biersteinerhärtend. Das sauere Fluorammonium löst nur $15^1/_2$ Proz., also 1 Proz. mehr als Wasser. Daraus geht hervor, daß die oxydierenden Mittel lösend, die Alkalien nur aufweichend und lockernd und die Säuren sowie Salze dichter machend auf den Bierstein einwirken. Kausch (Charlottenburg).

Fürnrohr, Oskar, Infektion durch Transportfässer. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XXVII. 1904. No. 46.)

Verf. hat durch eingehende Untersuchungen festgestellt, daß durch nicht hinreichend gereinigte Transportfässer eine mehr oder weniger starke Infektion der Biere eintreten kann und weist daher nochmals auf die Notwendigkeit intensiver Reinigung dieser Fässer hin.

Kausch (Charlottenburg).

Wallerstein, M., Die Verwendung von Formaldehyd als Desinfektionsmittel in der Brauerei. (Allgem. Brauer- u. Hopfen-Zeitung. Jahrg. XLV. 1905. No. 4.)

Verf. hat verschiedene Versuche angestellt, um den Wert und die Verwendbarkeit des Formaldehyds für Desinfektionszwecke im Brauereibetriebe, zum Reinhalten von Bottichen, Leitungen, Fässern, Geräten und Schläuchen, sowie zur Reinigung der Luft festzustellen, und kommt dabei zu dem Resultat, daß die Wirkungsweise der entsprechenden Formaldehydverdünnung stets erhebliche Vorteile sowohl für die biologische Beschaffenheit der Würze und des Bieres, als auch eine größere Haltbarkeit hervorruft. Er empfiehlt, die Wände und Böden, sowie die Unterlagen von Gärbottichen und Lagerfässern nach vorangegangener gründlicher mechanischer Reinigung mit einer 2-proz. Formaldehydlösung ein bezw. mehrere Male zu bepinseln. Zum Sterilisieren von Bierleitungen und Schläuchen soll eine 1-proz. Formaldehydlösung genügen, wobei ebenfalls zunächst eine gründliche mechanische Reinigung vorzunehmen und nachher eine gute Durchspülung mit möglichst keimfreiem Wasser erforderlich ist. Gärbottiche, Ruhbottiche und Spänfässer werden nach der mechanischen Reinigung mit einer 2-proz. Lösung ausgewaschen und letztere wird durch Spülung mit keimfreiem Wasser entfernt. Transportgefäße werden zweckmäßig nach der Heißwasserspülung mit 1-proz. Formaldehydlösung desinfiziert. Behufs Sterilisierung der Luft an Kühlapparaten und dergleichen läßt man vorteilhaft 4—6 Stunden Formaldehyddämpfe auf erstere einwirken.

Kausch (Charlottenburg).

Dewitz, J., Fang von Schmetterlingen mittels Acetylenlampen. (Allgem. Zeitschr. f. Entomologie. Bd. IX. 1904. p. 382—386, 401—409. Mit 1 Fig.)

Verf. berichtet über Versuche, welche er in der Station de Pathologie végétale zu Villefranche (Rhône) und im Auftrage dieser Station ausgeführt hat und in denen es sich darum handelte, Lepidopteren mit Acetylenlampen (Modell „Méduse") zu fangen. Der Versuchsgarten, welcher die verschiedenartigsten Gewächse enthielt (Gemüse, Blumen, Bäume, Sträucher, viele Reben) und von wechselvollem Terrain war, hatte 2,5 ha. Es brannten in ihm 7 Lampen und im Sommer 1902 noch eine 8. Lampe in einem anderen Garten. Die Lampen funktionierten aber nicht beständig. Von den Resultaten seien die folgenden erwähnt:

Im Gegensatz zu anderen Experimentatoren, aber in Uebereinstimmung mit E. E. Green, welcher in Ceylon mit derselben Lampe „Méduse" operiert hat, hat Verf. nur wenige Weibchen erhalten, die vollkommen leer waren. Von den übrigen besaßen die allermeisten noch alle Eier; andere fast noch alle. — Wenn eine Nacht für die Menge der gefangenen Schmetterlinge günstig war, so war sie es auch für die Prozentzahl der erbeuteten Weibchen. Diese nimmt zu mit der Anzahl der gefangenen Schmetterlinge. Es wurden von P. chrysor-

rhoea im ganzen 940:24 Exemplare gefangen, d. h. 940 Schmetterlinge, unter denen sich 24 Weibchen befanden. Dabei verteilten sich 562:24 Exemplare auf 9 Fänge und die übrigen 372:0 Exemplare auf 94 Fänge. — Um günstige Resultate zu geben, soll im allgemeinen eine Lampe nicht im Gebüsch versteckt sein; auch nicht auf einem entblößten, freien Platze stehen, in dessen nächster Nähe keinerlei Gebüsch vorhanden ist. Sie soll freistehen; aber einem Gebüsch, Dickicht etc. nahe sein. Der Ort, an dem eine Lampe steht, hat auch Einfluß auf den Fang der verschiedenen Gruppen und Arten. Für die überaus schädliche Art Carpocapsa pomonella waren Lampen in Apfelbäume gestellt, die allerdings nur wenig Blüten und keine Früchte trugen. Trotzdem wurden von 23:9 im ganzen erbeuteten Exemplaren fast alle, nämlich 20:8 hier gefangen. — Von gewissen Gruppen oder Arten erhielt man sehr wenige Weibchen; so von den Arctiiden, bei denen sich unter 571 Exemplaren nur 3 Weibchen befanden. — Gewisse Arten waren in einem Sommer sehr häufig und im folgenden fast ganz verschwunden. Im Jahre 1902 erhielt man von einer Lithosia 449:36 und von Nomophila noctuella 367:196 Exemplare, während man im Jahre 1903 nur 5:1 bezw. 4:4 Exemplare fing.

Es sind der Arbeit eine Liste und eine Tabelle beigegeben. Die erstere führt die gefangenen Arten nach Familien auf. Es wurden erbeutet Sphinges 6, Bombyces 39, Noctuae 58, Geomitrae 35 und Microlepidoptera 23 Arten. Im ganzen 161 Arten. Die Mikrolepidopteren, sowie die kleinen Geomitriden konnten nicht sämtlich bestimmt werden, da die genannte Untersuchung mit den alleinigen Hilfsmitteln der Station ausgeführt wurde und man zur Bestimmung jener Arten größere Sammlungen nötig hat. In der Tabelle sind sämtliche Fänge in horizontaler Reihenfolge nach Lampen und in vertikaler nach Monaten geordnet. Dabei wurden aber nur die großen Gruppen (Sphinges, Bombyces, Noctuae, Geomitrae, Microlepidoptera) berücksichtigt und sämtliche gefangene Schmetterlinge einer solchen Gruppe zusammengezählt. Es wurden nach dieser Tabelle gefangen 12:0 Sphinges (0,0), 2189:89 (4,06) Bombyces, 1113:210 (18,86) Noctuae, 455:121 (26,59) Geomitrae und 1157:438 (37,92) Microlepidoptera. Im ganzen 4902:858 (17,50) Schmetterlinge. Die in Klammern beigefügten Ziffern drücken für diese Zahlen die Prozentzahlen der Weibchen aus. Diese steigen von den Bombyciden zu den Microlepidopteren. Es ist hier aber eine merkwürdige Erscheinung zu verzeichnen. Wenn man in einer Schmetterlingsgruppe für einen Monat und alle Lampen oder für eine Lampe und alle Monate alle Fänge zusammenzählte, und wenn man von diesen Summen die Prozentzahlen der Weibchen feststellte, so entfernten sich alle diese Prozentzahlen der Weibchen nicht weit von den obigen Prozentzahlen der Weibchen, welche für sämtliche gefangenen Schmetterlinge einer Gruppe erhalten wurden (4,06, 18,86 u. s. w.). Es scheint demnach, daß an einem gegebenen Orte (Lande) die Prozentzahlen der gefangenen Weibchen einer bestimmten Schmetterlingsgruppe (Bombyces, Noctuae u. s. w.) um eine bestimmte Größe schwanken. In dieser Beziehung ist es interessant zu erwähnen, daß, während der Verf. als Prozentzahl aller gefangenen Weibchen der Microlepidopteren 38 erhielt, G. Gastine und V. Vermorel für Cochylis ambiguella (Microlep.) der Rebe 42 und J. Laborde für Tortrix pilleriana (Microlep.) der Rebe 40 angeben.

J. Dewitz.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines.

Busse, W., Reisebericht der pflanzenpathologischen Expedition des kolonial-wirtschaftlichen Komitees nach Westafrika. (Tropenpflanzer. Jg. IX. 1905. N. 1. p. 25—37.)

Conn, H. W., Bacteria Yeasts and Molds in the home. London 1904. 300 p. 8°.

Gradwohl, R. B. H., Importance de l'examen bactériologique pratique sur les cadavres. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année VIII. 1904. N. 12. p. 733—767.)

Green, J. R., The Development of parasitism. (Knowledge and scientif. News 1904. p. 114—116.)

Harperath, L., Argentinisches Gärungsgewerbe. Weinbereitung. Alkohol-Industrie. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 611—615.)

Heim, Gustav, Hygienische Neuigkeiten von der Weltausstellung in St. Louis. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspfl. Jg. XXIV. 1905. Heft 1/2. p. 8—16.)

Jahresbericht über die Fortschritte der Tierchemie oder der physiologischen und pathologischen Chemie. Hrsg. v. Rud. Andreasch und Karl Spiro. Bd. XXXIII. üb. d. Jahr 1903. Wiesbaden 1904. 1298 p. 8°. 36 M.

Leidy, Joseph, Researches in Helminthology and Parasitology. With a bibliography of his contributions to science. (Smiths onian Miscell. Coll. Part of Vol. XLVI. 1904. 281 p. 8°.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Dienert, F., Action du magnésium et de la magnésie sur les microbes. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 4. p. 273—275.)

Ellermann, V., Ueber die Kultur der fusiformen Bacillen. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 5. p. 729—730.)

Gordon, Mervyn H., Einige Angaben zur Differenzierung von Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 5. p. 728.)

Heller, Otto, Die Rothbergsche Neutralrotreaktion auf Gelatine bei 37°. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 1. p. 117—122.)

Hill, Hibbert Winslow, Preparation of broth cultures for flagella staining. (Journ. of med. research. Vol. XIII. 1904. N. 1. p. 97—98.)

Kaufmann, Joh. C., Hemmingsens Thermoregulator beim Vorwärmen und Pasteurisieren. (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. I. 1905. Heft 1. p. 24—26. 2 Fig.)

Kokubo, Kaisaku, Das Schulersche Triumph-Isny-Filter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 1. p. 122—125.)

Long und **Preusse**, Praktische Anleitung zur Trichinenschau. Aufl. 6. bearb. v. M. Preuße. Berlin (Schoetz) 1905. IV, 85 p. Mit Fig. 2,50 M.

Ortners Loup Stand. (Journ. of the R. microsc. soc. 1904. Part. 6. p. 701—702. 1 Fig.)

Ortners Pocket-Loup. (Journ. of the R. microsc. soc. 1904. Part. 6. p. 701. 1 Fig.)

Plehn, A., Zu meiner Mitteilung über Schnellfärbung und Schnittfärbung nach Romanowski. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. IX. 1904. N. 1. p. 17.)

Remy, Th., Neuere Hilfsmittel zur Gewinnung stärkereicher Rohstoffe für die Gärungsgewerbe. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 639—646.)

Siebert, C., Ultramikroskopische Bakterien-Photogramme. (Beitr. z. exper. Ther. hrsg. v. E. Behring. 1905. Heft 10. p. 55—58. 10 Fig.)

Spitta, E. J., On suiting contrast sreens for the photography of bacteria. (Photography. Vol. XVII. 1904. p. 577—579. 4 Taf.)

Steinbrück, H., Ein neues transportables Trichinenmikroskop. (Dtsche Fleischbeschauer-Ztg. 1905. N. 1. p. 8—9. 2 Fig.)

Wichmann, Heinrich, Ist es wünschenswert, einheitliche biologische Untersuchungsmethoden einzuführen und auf Grund derselben eine einheitliche Beurteilung (insbesondere von Hefe, Bier, Brauwasser) anzubahnen? (5. internat. Kongr. f. angew. Chem. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 549—551.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Becker, Berthold, Zur Anatomie der Genitalien des gamogenetischen Weibchens von Chermes orientalis Dreyfus. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1904. Heft 1. p. 38—40.)

Beijerinck, M. W., Chlorella variegata ein bunter Mikrobe. (Rec. Trav. Bot. Néerland. Bd. I. 1904. p. 14—27.)

Berlese, Antonio, Acari nuovi. Manip. 1. 2. (Redia (Giorn. entomol.) Vol. I. (1903) 1904. Fasc. 2. p. 235—252; p. 258—280.)

—, Illustrazione iconografica degli Acari mirmecofili. (Redia (Giorn. entomol.). Vol. I. (1903) 1904. Fasc. 2. p. 299—474. 14 Taf.)

Bezzi, M., Brevi notizie sui ditterocecidii del America del Nord. (Marcellia 3. 1904. p. 131. —147.)

Broden, A., Parasites intestinaux chez les negrès. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. IX. 1905. N. 1. p. 20—21.)

—, Les Trypanosomes des grenouilles. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. IX. 1905. Heft 1. p. 18—20. 1 Taf.)

Buchholtz, Fedor, Bemerkung über das Vorkommen des Mutterkornes in den Ostseeprovinzen Rußlands. (Korrespondenzbl. d. naturf. Ver. Riga. Bd. XLVII. 1904. p. 57 —64.)

Chittendon, F. J., The Uredineae and Ustilagineae of Essex. (Essex Naturalist. Vol. XIII. 1904. p. 283 - 294.)

Citron, Julius, Ueber das Verhalten der Favus- und Trichophytonpilze im Organismus. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLIX. 1905. Heft 1. p. 120—134.)

Doebert, A., Die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen dem Bacillus faecalis alcaligenes und dem Typhusbacillus. (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905. Heft 1. p. 70—82.)

Doty, A. H., The use of sulphate of copper alone, and it combination with lime, for the destruction of mosquito larvae, as a deodorant, and as a disinfectant. (Med. Record. Vol. LXVII. 1905. N. 3. p. 90—92.)

Durrant et **Hohnes, J. D. E.**, A Trypanosoma found in blood of cattle in India. (Journ. of comp. Pathol. a. Therap. Vol. XVII. 1904. p. 209—210. 1 Taf.)

Dyé, Léon, Les parasites des culicides. (Arch. de parasitol. T. IX. 1904. N. 1. p. 5—77.)

Eriksson, Jakob, On the vegetative life of some Uredineae. (Ann. of botany. Vol. XIX. 1905. p. 55—59.)

Faelli, G., Ricerche di batteriologia agraria fatte nel Agro Romano. (Arch. Farmacol. Specim. Sc. aff. III. 1904. p. 1—17.)

Falck, Richard, Die Sporenverbreitung bei den Basidiomyceten und der biologische Wert der Basidie. Breslau (Kern) 1904. III, 82 p. 6 Taf. (Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. Bd. IX. Heft 1.) 7 M.

Foà, Anna, Ricerche intorno a due specie di Flagellati parassiti. (Atti Accad. Lincei. Rendic. (Cl. Sc. fis.. mat. e. nat.) Anno CCCI. Ser. 5. Vol. XIII. Fasc. 3. Sem. 1. 1904. p. 121—130. Mit Fig.)

Fraysse, A., Sur la biologie et l'anatomie des suçoirs de l'Osyris alba. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 4. p. 270—271.)

Froggatt, Walter, W., The sheep maggot fly, with Notes on other common flies. (Agric. Gaz. of N. S. Wales. Vol. XV. 1904. N. 12. p. 1205—1211. 1 Taf.)

Gepp, A. and **E. S.**, Notes on penicillus and rhipocephalus. (Journ. of bot. Vol. XLIII. 1904. N. 505. p. 1—5. 1 Taf.)

Grassi, B. e **Foà, A.**, Ricerche sulla riproduzione dei Flagellati. 1. Processo di divisione delle Joenie e forme affini: nota prel. (Atti Accad. Lincei, Rendic. (Cl. Sc. fis., mat. e nat.) Anno CCCI. Ser. 5. Vol. XIII. Fasc. 5. Sem. 2. 1904. p. 241—253. Mit Fig.)

Green, E. Ernest, Notes on Australian Coccidae, ex coll. W. W. Froggatt, with descriptions of new species. N. 1. (Proc. of the Linnean soc. of New-South-Wales. Vol. XXIX. 1905. P. 3. p. 462—465. 2 Taf.)

—, On some Javanese Coccidae, with descriptions of new species. (Entomologist's monthly mag. Ser. 2. 1905. N. 182. p. 28—33. 8 Fig.)

von Guttenberg, Hermann Ritter, Beiträge zur physiologischen Anatomie der Pilzgallen. Leipzig (Engelmann) 1905. 70 p. 8°. 4 Taf. 2,60 M.

Hennings, P., Fungi amazonici IV. a cl. Ernesto Ule collecti. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1905. Heft 2. p. 57—71. 3 Fig.)

Herzog, M., Fatal infection by a hitherto undescribed chromogenic bacterium: Bacillus aureus foetidus. (Publ. Bur. Gov. Laborat. Manila 1904. 16 p.)

Hesse, Edmond, Sur Myxocystis Mrázeki Hesse, Microsporidie parasite de Limnodrilus Hoffmeisteri Ceap. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 1. p. 12—13. 9 Fig.)

Jakimoff, W. L., Zur Biologie der Trypanosomen der Nagana und des Mal de Caderas. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 5. p. 668—678.)

Kellermann, W. A., A new species of Peronospora. (Journ. of Mycol. Vol. X. 1904. p. 170—172. 1 Taf.)

—, Cultures of Puccinia thompsonii Hume. (Journ. of Mycol. Vol. X. 1904. p. 173 —174.)

Keutner, J., Ueber das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere. Diss. phil. Kiel 1904. 31 p. 4°.

Kuyper, H. P., De perithecium-ontwikkeling van Monascus purpureus Went en Monascus Barkeri Dang. (Kgl. Akad. Wet. Amsterdam Versl. 1904. p. 46—50.)

Lasserre, J., Contribution à l'étude du genre Nocardia (Streptothrix Cohn); description d'une espèce nouvelle. Thèse de Toulon. 1904. 8°.

Léger, Louis, Sur un nouveau Flagellé parasite des Tabanides. (Compt. rend. soc. biol. T. LVII. 1904. N. 37. p. 613—615. 5 Fig.)

—, Sur les affinités de l'Herpetomonas subulata et la phylogénie des trypanosomes. (Compt. rend. soc. biol. T. LVII. 1904. N. 37. p. 615—617.)

Léger, L. et Duboscq, O., Notes sur les infusoires endoparasites. (Arch. de Zool. expér. et gén. Année XXXII. 1904. p. 337—352. 1 Fig.)

Le Dantec, A., Recherches expérimentales démontrant la non-toxicité du Ténia inerme. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 3. p. 151—152. (Réun. biol. Bordeaux).

Léger, Louis et Hesse, Edmond, Sur un nouveau protiste parasite des Otiorhynques. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1904. N. 3. p. 92—94.)

Léger, L. et Duboscq, O., Notes sur les Infusoires endoparasites. (Arch. de zool. expér. et gén. Année XXXII. 1904. N. 4. p. 353—356.)

v. Linstow, Neue Helminthen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 5. p. 678—683. 11 Fig.)

Mc Neal, Ward J., The life-history of Trypanosoma Lewisi and Trypanosoma Brucei. (Journ. of infect. diseases. T. I. 1904. p. 517—543. 7 Taf.)

Mosquito work in Khartoum and in the Anglo-Egyptian Sudan generally. (First Report of the Wellcome research laborat. at the Gordon memor. College Khartoum 1904. p. 14—36. Mit Fig.)

Opalka, Ladislaus, Beitrag zum Vorkommen der Trichinen bei Menschen mit Rücksicht auf die Prophylaxe. (Arb. a. d. hyg. Inst. d. k. tierärztl. Hochschule. Berlin. N. 3. 44 p. 1,20 M.

Oudemans, A. C., Notes on Acari. XIII. Series. (Tijdschr. voor Entomol. Jg. 1904. p. 114—135. 4 Taf.)

Passini, Fritz, Studien über fäulniserregende anaërobe Bakterien des normalen menschlichen Darmes und ihre Bedeutung. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLIX. 1905. Heft 1. p. 135—160.)

Penning, C. A., Les trypanosomes aux Indes Néerlandaises. [Suite.] (Janus. Année X. 1905. Livr. 1. p. 29—36.)

Pérez, Ch., Sur une Glugea nouvelle parasite de Balanus amaryllis. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 3. p. 150—151.)

—, Influence des microsporidies sur l'organisme des crabes. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 3. p. 148—150.)

—, Sur une nouvelle glugéidée parasite du Carcinus maenas. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. N. 3. p. 146—148. [Réun. biol. Bordeaux.])

Perroncito, E., Sull' incapsulamento e incistidamento delle larve di Nematodi allo stato libero. (Giorn. Accad. med. Torino. Anno LXVII. 1904. N. 4. p. 285—291. u. Gazz. med. Ital. Anno LV. 1904. N. 21. p. 202.)

Pinto, A. A., Le gonocoque. Morphologie. Cultures. Virulence. [1. mém.] (Journ. de physiol. et de pathol. gén. T. VI. 1904. N. 6. p. 1058—1066.)

—, Le gonocoque. Les rapports avec le méningocoque. [2. mém.] (Journ. de physiol. et pathol. gén. T. VI. 1904. N. 6. p. 1081—1088.)

Porta, Ant., Gli Echinorinchi dei pesci. Camerino, tip. Savini 1904. 78 p. 8°.

van Rossum, A. J., Levensgeschiedenis van Cimbex fagi Zadd. (Tijdschr. voor Entomol. Jg. 1904. p. 69—98. 3 Taf.)

Salmon, E. S., On specialization of parasitism in the Erysiphaceae II. (New Phytol. Vol. III. 1904. p. 109—122.)

Salmon, Ernest S., Further cultural experiments with „Biologic Forms" of the Erysiphaceae. (Ann. of botany. Vol. XIX. 1905. p. 125—148.)

Scagliosi, G., Ueber veränderte Eigenschaften des Bacillus anthracis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 5. p. 649—654.)

Schwarz, Carl, Ueber einen neuen für Kaltblüter pathogenen Mikroorganismus (B. hypothermos). (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 1. p. 11—14.)

Smith, R. Greig, A variable galactan bacterium (Bacillus atherstonei n. sp.). (Proc. of the Linnean soc. of New South Wales for the year 1905. Vol. XXIX. 1905. Part 3. p. 442—448.)

—, The red string of the sugar-cane (Bacillus pseudarabinus n. sp.). (Proc. of the Linnean soc. of New South Wales. Vol. XXIX. 1905. P. 3. p. 449—460. 3 Taf.)

Stiles, Charles Wardell, The Dwarf Tapeworm (Hymenolepis nana), a newly recognized and probably, rather common American Parasite. (New York med. Journ. a Philadelphia med. Journ. 1903. 16 p. 5 Fig.)

von Szabó, Zoltán, Ueber eine neue Hyphomyceten-Gattung. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1904. Heft 2. p. 76—77.)

Theobald, Fred. V., The mosquitoes of Egypt, The Sudan and Abyssinia. (First rep. of the Wellcome research laborat. at the Gordon memorial Coll. Khartoum. Khartoum 1904. p. 62—83. 4 Taf. u. 7 Fig.)

—, The mosquitoes of Egypt, The Sudan and Abyssinia. (First Report of the Wellcome research laborat. at the Gordon memor. College Khartoum 1904. p. 62—83. 6 Taf. u. 6 Fig.)

The mussel scale (Mytolapsis pomorum Bouché). (Leaflet 1904. N. 107. Board of Agric. a. Fisher. 4 p. 2 Fig.)

The sheep maggot fly. (Journ. of the board of Agric. Vol. XI. 1904. N. 9. p. 551—553. 3 Fig.)

Uriarte, Léopold, Sur la classification des pulicides des rats. (Rectification à une note antérieure. Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 3. p. 98—99.)

Vanderyst, H., Rapport sur l'enquête entreprise par le département de l'agriculture sur la hernie du chou, Plasmodiophora brassicae Wor. Bruxelles 1904. 35 p. 8°.

Vuillemin, Paul, Hyphoides et bactérioides. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 1. p. 52—53.)

Ward, H. Marshall, Recent researches on the parasitism of fungi. (Ann. of botany. Vol. XIX. 1905. p. 1—54.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

Arcichowski, V., Zur Frage über das Bakteriopurpurin. (Bull. Jard. Imp. Bot. Pétersbourg. Vol. IV. 1904. [Russ. m. franz. Res.])

Amand, Abel, La disparition du bios de Wildiers dans les cultures de levure. (Le Cellule. T. XXI. 1904. Fasc. 2. p. 329—346.)

Barendrecht, H. P., Enzymwirkung. (Ztschr. f. physikal. Chem. Bd. XLIX. 1904. Heft 4. p. 456—482. 10 Fig.)

Beebe, S. P. and **Buxton, B. H.**, The production of fat from proteid by the Bacillus pyocyaneus. (American Journ. of Physiol. Vol. XII. 1905. N. 5. p. 466—470. 1 Fig.)

Bertrand, G., Étude biochimique de la bactérie du sorbose. (Ann. Chim. Phys. Sér. VIII. 1904. p. 181—288.)

Brault, A. et **Loeper, M.**, Le glycogène dans le développement de quelques organismes inférieurs. (Journ. Physiol. Pathol. Genève. Vol. VI. 1904. p. 720—722. 1 Taf.)

Brocq-Rousseu, D., Sur un streptothrix, cause de l'altération des avoines moisies. (Rev. gén. bot. T. XVI. 1904. p. 219—230. 1 Taf.)

Buchner, Eduard, Ueber Enzyme bei Milchsäure- und Essiggärung. (5. internat. Kongr f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 496—497.)

Craw, J. A., On the mechanism of agglutination. (Journ. of hygiene. Vol. V. 1905. N. 1. p. 113—128.)

Czapek, Friedrich, Biochemie der Pflanzen. Bd. I. Jena 1905. XV, 584 p. 8°. 14 M.

Fischer, Hugo, Ein Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen von stickstoffsammelnden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 2. p. 33—34.)

Guilliermond, A., Untersuchungen über die Keimung der Sporen bei einigen Hefen. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. XXVIII. 1905. N. 5. p. 41.)

Heinze, Berthold, Einige Berichtigungen und weitere Mitteilungen zu der Abhandlung: Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 1. p. 9—21.)

Henneberg, W., Ueber die Physiologie der Heferassen 2 und 12. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 646—650.)

Hiltner, L., Die Impfung der Leguminosen mit Reinkulturen und ihre praktische Bedeutung. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 799—804.)

Jammes, L. et **Mandoul, H.**, Sur la biologie des Cestodes. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 4. p. 271—273.)

Jensen, Vilh., Ist die Kleinsche Hefe eine besondere Art? Antwort an Dr. Erich Cohn. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 1. p. 51—54.)

Koritschoner, F., Zur Entwickelung der Gärungstheorie. (Pharm. Post. Wien. Bd. XXXVII. 1904. p. 237—240; 249—250.)

Kostytschew, S., Ueber die normale und die anaërobe Atmung bei Abwesenheit von Zucker. (Jahrb. d. wiss. Bot. Bd. XL. 1904. Heft 4. p. 563—592.)

Lesage, A., Culture de l'amibe de la dysentérie des pays chauds. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 1. p. 9—16. 2 Taf.)

von Lepel, Empfiehlt es sich allgemein, ein Verbot des Stärkemehlzusatzes zur Preßhefe herbeizuführen? (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 599—605.)

Lindet et **Marsais, P.,** Sur la production comparée de l'alcool et de l'acide carbonique au cours de la fermentation. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXIX. 1905. N. 26. p. 1223—1225.)

Lindner, P., Ueber die biologische Analyse gärender Flüssigkeiten. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 551—554.)

Loiseau, D., Contribution à l'étude du Mélibiose. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 386—397.)

Macchiati, L., Note di biologia sul Bacterium chlorometamorphicum n. sp. (Bull. soc. bot. Ital. Firenze 1904. p. 238—241.)

Mathieu, M. L., Nouveau procédé de dosage de l'acide sulfureux combiné dans les boissons fermentées. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. IV. Berlin 1904. p. 192—199.)

Mazé, P. et **Perrier, A.,** Recherches sur l'assimilation de quelques substances ternaires par les végétaux à chlorophylle. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année VIII. 1904. N. 12. p. 721—747. 11 Fig.)

Moreau, L., La Pasteurisation en Anjou. (Rev. de viticulture. Année XII. 1905. N. 577. p. 10—14.)

Neumann-Wender, Zur Nomenklatur der Hefearbeit. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 519—525.)

—, Farbreaktionen der Enzyme. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 525—530.)

Philoche, Ch., Etude sur l'action de la maltase. (Journ. de Physiol. et de pathol. gén. T. VI. 1904. N. 6. p. 1023—1038.)

Rahn, Otto, Die Empfindlichkeit der Fäulnis- und Milchsäurebakterien gegen Gifte. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 1. p. 21—25.)

Rettger, Leo F., On the autolysis of yeasts and bacteria. (Journ. of med. research. Vol. XIII. 1904. N. 1. p. 92—97.)

Rosenstiehl, A., Einfluß der Farb- und Gerbstoffe auf die Tätigkeit der Hefen. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 698—701.)

Schönfeld, F., Die Verwendung von nach dem Lufthefeverfahren hergestellter Bierhefe für die Herstellung obergäriger Biere. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 558—566.)

von Schwarz und **Ritter, A.,** Ueber Methoden der Wertbestimmung der Preßhefe. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 586—594.)

Sorel, Alfred, De l'emploi de la levure dans la panification. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 681—687.)

Stäger, Rob., Weitere Beiträge zur Biologie des Mutterkorns. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 25—32.)

Stoklasa, Julius, Ueber die Identität der anaëroben Atmung und alkoholischen Gärung und die Isolierung gärungserregender Enzyme aus der Zelle der höheren Pflanzen und Tiere. (5. internat. Kongr. f. angew. Chem. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 505—518.)

Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. 6. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden. [Schluß.] (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVIII. 1905. N. 6. p. 93—97.)

Windisch, Ueber das Verhalten der Eiweißstoffe bei der alkoholischen Gärung. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrik. Jg. XXIII. 1905. N. 3. p. 19—23. [Wchnschr. f. Brauerei.])

Zikes, H., Ueber die Einwirkung verschiedener Wasserbakterien auf Würze und Bier. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 556—558.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Luft, Wasser, Boden.

Baumann, Ernst, Ueber den Befund von milzbrandähnlichen Bacillen im Wasser. (Hyg. Rundsch. Jg. XV. 1905. p. 7—13.)

Bonjean, Ed., Eau oxygénée à l'état naissant. Activité bactéricide sur les germes des eaux. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 1. p. 50—52.)

Eijkman, C., Die Gärungsprobe bei 46 ° als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 5. p. 742—752.)

Hoffmann, W., Untersuchungen über die Lebensdauer von Typhusbacillen im Aquariumwasser. (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905. Heft 2. p. 208—217.)

Jordan, E. O., Russell, H. L. and **Zeit, R.,** The longevity of the typhoid bacillus in water. (Journ. of infect. diseases. T. I. 1904. p. 641.)

Kaiser, M., Ueber die Bedeutung des Bacterium coli im Brunnenwasser. (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905. Heft 2. p. 121—150.)

Koch, Alfred, Bodenbakteriologische Forschungen und ihre praktische Bedeutung. Leipzig 1904. 20 p. 8°.

Löhnis, F., Zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. 2. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. Abt. II. 1905. N. 1. p. 1—8.)

Prescott, S. C. and **Winslow, C. E.**, Elements of Water Bacteriology. New York 1904. X, 162 p. 8°. 6,50 M.

Proskauer, B., Ueber die Sterilisation des Wassers durch Ozon. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Berlin 1904. p. 952—958.)

Remy, Th., Die bakteriologische Untersuchung der Ackerböden. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 784—794.)

Saito, K., Untersuchungen über die atmosphärischen Pilzkeime. [1. Mitteilung.] (Journ. of the sc. College Imp. Univers. Tokyo. Vol. XVIII. 1904. 58 p. 5 Taf.)

Seiler, Frédéric, Bacille de Loeffler, dans l'eau potable. (Rev. méd. de la Suisse Romande. Année XXIV. 1904. N. 12. p. 772—774. 1 Taf.)

Strössner, Edmund, Typhusbacillen in dem Wasser eines Hausbrunnens. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 1. p. 19—24.)

Fleisch.

Buchanan, R. M., Bacillus typhosus isolated from shell-fish in connection with an out break of typhoid fever. (Journ. of the R. sanitary Inst. Vol. XXV. 1904. P. 3. p. 463—473.)

Butjagin, P. W., Die chemischen Veränderungen des Fleisches beim Schimmeln (Penicillium glaucum und Aspergillus niger). (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905. Heft 1. p. 1—21. 2 Taf.)

Newsholme, Arthur, Shell-Fish and infection. (Journ. of the R. sanitary Inst. Vol. XXV. 1904. P. 3. p. 454—462.)

Ostertag, R., Leitfaden für Fleischbeschauer. Eine Anweisung für die Ausbildung als Fleischbeschauer und für die amtlichen Prüfungen. Aufl. 8. XIV, 314 p. Berlin (Schoetz) 1904. 8°. 176 Fig. 7,50 M.

Milch, Molkerei.

Auerbach, Norbert, Kindermilch und hygienische Stadtmolkereien. (Arch. f. Kinderheilk. Bd. XL. 1905. Heft 4/6. p. 361—374.)

v. Freudenreich, Ed. und **Thöni, J.**, Ueber die Wirkung verschiedener Milchsäurefermente auf die Käsereifung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 2. p. 34—43. 1 Taf.)

— —, Ueber die Wirkung verschiedener Milchsäurefermente auf die Käsereifung. (Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. Jg. XVIII. 1904. Heft 11. p. 531—554. 1 Taf.)

Gratz, Otto, Ueber das Rotwerden der Käse. (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. I. 1905. Heft 1. p. 9—12.)

Hesse, A., Butteruntersuchungen. (Molkerei-Ztg. Hildesheim. Jg. XIX. 1905. N. 2. p. 25—27.)

Knolle, Milchhygienische Untersuchungen, insbesondere über das v. Behringsche Verfahren, Säuglingsmilch durch Formalin haltbar zu machen. (Molkerei-Ztg. Jg. XV. 1905. N. 3. p. 25—26.)

Lindet, L., Sur le choix d'un antiseptique destiné à conserver les échantillons de lait pour l'analyse. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. IV. Berlin 1904. p. 1025—1027.)

Peter, A., Technisch-bakteriologische Versuche in der Emmentaler Käserei. [Forts.] (Molkerei-Ztg. Jg. XV. 1905. N. 5. p. 49—51.)

Reiss, Emil, Die Katalase der Milch. (Ztschr. f. klin. Med. Bd. LVI. 1905. Heft 1/2. p. 1—12.)

v. Schuemacher, Milchkontrolle unter Mitwirkung von Tierärzten. (Dtsche tierärztliche Wchnschr. Jg. XIII. 1905. N. 4. p. 37—40.)

Seligmann, E., Das Verhalten der Kuhmilch zu fuchsinschwefliger Säure und ein Nachweis des Formalins in der Milch. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLIX. 1905. Heft 2. p. 325—328.)

Smith, Bernard H., The estimation of formaldehyde in milk. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. IV. Berlin 1904. p. 199—202.)

Sommerfeld, Paul, Besitzen die löslichen Eiweißkörper der Milch spezifische bakterizide Eigenschaften? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 5. p. 716—721. 1 Fig.)

Stenström, O., Le lait additionné de formol selon le procédé von Behring. (Rev. gén. du lait. 1904. p. 49—55.)

Weigmann, H. und **Gruber, Th.**, Einige bodenbakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. I. 1905. Heft 1. p. 3—6.)
Woodruff, H. A., The dangers of an impure milk supply. (Journ. of the sanitary Inst. Vol. XXV. 1904. P. 3. p. 837—847.)

Wein, Weinbereitung.

Bassermann-Jordan, L., Entwurf einer Mitteilung betr. Nachgärung früher flaschenreif gewesener Weißweine. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 618—622.)
Einiges über kranke Weine und deren Behandlung. [Schluß.] (Die Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 4. p. 39—40; N. 5. p. 50—51.)
Mastbaum, H., Ueber das Vorkommen von Salicylsäure in Weinen, sowie in Trauben und anderen Früchten. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 624—635.)
Muth, F., Ueber Weinschönungsmittel im allgemeinen und über das neue Präparat Kaseïn im besonderen. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIII. 1905. N. 1. p. 1—2.)
Windisch, K., Ueber den Säurerückgang bei der Gärung der Moste und der Lagerung der Weine. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 622—623.)

Bier, Brauerei.

Claussen, N. Hjelte, Zur Brettannomycesfrage. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1904. N. 2. p. 23.)
Emslander, Fritz und **Freundlich, Herbert**, Oberflächeneinflüsse beim Bier und bei der Bierbereitung. (Ztschr. f. physikal. Chem. Bd. XLIX. 1904. Heft 3. p. 317—328. 1 Fig.)
Nathan, L., Ueber Mittel zur Beschleunigung der Biergärung und der Reifung des Bieres. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 566—573.)
Saito, K., Ueber das Vorkommen von Saccharomyces anomalus beim Sakebrauen. (Journ. of the Coll. of Sc. Imper. Univers. Tokyo. Vol. XIX. 1904. Article 18. 8 p. 1 Taf.)
Schönfeld, F., Rotfärbung von hellem, untergärigem Biere beim Pasteurisieren. (Wochenschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 5. p. 64—67.)
Seyffert, H., Zur Porterfrage. Ein Wort zur Abwehr. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 5. p. 75—76.)

Andere Nahrungsmittel.

Winckel, Max, Ueber belichtete und ranzige Fette. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd IX. 1905. Heft 2. p. 90—96.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Bréchot, A., Nécessité de la destruction sur place de toutes les ordures dans les hôpitaux, forts, ambulances, hôpitaux volants. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. III 1905. p. 24—37. 4 Fig.)
Davies, A. M. and **Tyndale, W. C.**, Sewage disposal on chalk soils. (Journ. of the R. sanitary Inst. Vol. XXV. 1904. P. 3. p. 643—655.)
Ewald, Desinfektionsversuche mit Alkoholdämpfen. (Hyg. Rundsch. Jg. XV. 1905. N. 2. p. 61—65.)
Fehrs, L., Ueber den Desinfektionswert verschiedener Handelsmarken von Liquor cresoli saponatus des deutschen Arzneibuches. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 5. p. 730—741.)
Foà, G. e **Corsini, A.**, Il tachiolo, quale disinfettante delle acque potabili. (Lo Sperimentale. (Arch. di biol. norm. e patol.) Anno LVIII. 1904. Fasc. 6. p. 1081—1087.)
Kausch, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXV. 1905. N. 24/25. p. 753—760. 17 Fig.)
Kenwood, Henry and **Allan, F. J.**, Practical disinfection in rooms and workshops occupied by sufferers from consumption. (Journ. of the R. sanitary Inst. Vol. XXV. 1904. P. 3. p. 385—390.)
Martel, H., La désinfection des wagons et des bateaux ayant servi au transport des animaux domestiques. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. IV. Berlin 1904. p. 251—253.)
Raschkowitsch, S., Der gegenwärtige Stand der Frage über die Abwässerreinigung der Zuckerfabriken in Rußland und Beobachtungen über die biologische Methode. (5. internat. Kongr. f. angew. Chemie. Berlin 1903. Bericht. Bd. III. Berlin 1904. p. 155—173.)
Sarwey, O., Bakteriologische Bemerkungen zur Heißwasser-Alkoholdesinfektion. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXI. 1905. N. 1. p. 13—15.)

Schmatolla, Otto, Lysol contra Seifenkreosol. (Dtsche med. Wchnschr. Jg. XXXI. 1905. N. 3. p. 111—112.)

Tollens, Karl, Ueber die Wirkung der Kresole und des Liquor Cresoli saponatus im Vergleich zur Karbolsäure. (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. LII. 1905. Heft 3/4. p. 220—241.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Aphides or plant-lice. Leaflet N. 104. 1904. Board of Agric. a. Fisher. 4 p.

Arthur, J. C., The Corn smut. (The Book of Corn N. Y. 1903. p. 278—288.)

Baltet, Ch., Les ennemis du pommier. (Ann. soc. hort. hist. nat. Hérault. Vol. XXXVI. Sér. 2. 1904. p. 63—68.)

Barber, C. A., Diseases of Andropogon sorghum in the Madras Presidency. (Depart. Land. Rec. Agric. Madras Bull. 2. 1904. p. 273—288.)

Bezzi, M., Ancora la galle dell' Aronia. (Marcellia. Vol. III. 1904. p. 16—17.)

Biting and noxious insects other than Mosquitoes. (First Report of the Wellcome research laborat. at the Gordon memor. College Khartoum 1904. p. 38—39. 1 Taf.)

Bitter rot of apples (Gloeosporium fructigenum). (Gard. Chron. Vol. XXXVI. 1904. p. 249—251.)

Black scab of potatoes. Oedomyces leproides Trabut. Leaflet N. 105. 1904. Board of Agric. a. Fisher. 4 p. 2 Fig.

van Breda de Haan, J., Wortelziekte bij de peper op Java. (Teysmannia 15. 1904. p. 367—376.)

Briosi, G. e **Cavara,** I funghi parassiti delle piante coltivate ed utili XV. Pavia 1904. 8°.

Brizi, A., Il „mal del piede" del frumento e l'abbruciamento delle stoppie. (Avven. Agricol. 12. 1904. p. 147—153.)

Brizi, U., Una malattia dell' Indivia (Cichorium endivia). (Agricol. mod. 1904. p. 32—33.)

Busse, Walter, Untersuchungen über die Krankheiten der Sorghum-Hirse. Ein Beitrag zur Pathologie und Biologie tropischer Kulturgewächse. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. IV. 1904. Heft 3. p. 319—426. 2 Taf. u. 12 Fig.)

Carleton, M. A., Investigations of rusts. (U. S. of agric. Bur. Pl. Ind. Bull. N. 63. Washington. 1904. 29 p. 2 Taf.)

de Carolis, C., Il pidocchio sanguigno del melo in provincia di Verona. (Agricolt. Venet. 1904. p. 149—151.)

Chester, F. D. and **Smith, C. O.,** Notes on fungous diseases in Delaware. (Delaware Agric. Exp. Stat. Bull. 1904. N. 63. p. 1—32. 3 Taf.)

Cocoanut-tree diseases. (Queensland. Agric. Journ. Vol. XIV. 1904. P. 4.)

Collar rot or mal di gomma of Citrus trees. (Bull. Misc. Inf. Trinidad 1904. N. 41.)

Cruchet, D., Les cryptogames de l'Edelweiß. (Bull. soc. Vaudoise. Sér. 4. T. XL. 1904. p. 25—31.)

Cyanogenesis in Sorghum vulgare. (First Report of the Wellcome research Laborat. at the Gordon memor. College Khartoum. 1904. p. 46—48.)

Detmann, H., Pathologische Vorkommnisse in Oesterreich-Ungarn. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 6. p. 252—253.)

Drabble, E., On the anatomy of the roots of palms. (Trans. Linn. Soc. 1904. 64 p. 4°. 4 Taf. u. 22 Fig. 14,50 M.

Dry rot. (Merulius lacrymans Fries.). Leaflet N. 113. 1904. Board of Agric. a. Fisher. 4 p. 1 Fig.

Ducos, J., Du black-rot. Découverte du moment des traitements opportuns. De la résistance des hybrides producteurs directs à cette maladie. (La vigne americaine. Macon. Année XXIX. 1905. N. 1. p. 14—25.)

Failure of vines. Report of commission on alleged disease about Stellenbosch. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXV. 1904. N. 6. p. 693—699. 1 Fig.)

French, C., A new apple pest. The apple-tree hanging moth (Charagia lignivora Lewin). (Journ. Agric. Victoria XI. 1904. p. 7.)

Goethe, Rudolph, Ueber den Krebs der Obstbäume. Berlin (Parey) 1904. 8°. 34 p. 28 Fig.

Guéguen, F., Les maladies parasitaires de la vigne. Paris (Doin) 1904. 8°. 198 p.

Harding, H. A. and **Nicholson, J. F.,** A Swelling of conned peas accompanied by a Malodorous decomposition. (New York Agric. Exp. Stat. Geneva Bull. N. 249. 1904. p. 154—168.)

Hiltner, L. und **Peters, L.,** Untersuchungen über die Keimlingskrankheiten der Zucker- und Runkelrüben. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. IV. 1904. Heft 3. p. 207—253.)

Jacoby, Martin, Another contribution to the knowledge of Indian phytophagous Coleoptera. (Ann. de la soc. entomol. de Belgique. T. XLVIII. 1904. N. 11. p. 380—406.)
Insects and vegetable parasites injurious to crops. (First Report of the Wellcome research laborat. at the Wellcome memor. College Khartoum. 1904. p. 41—45. 3 Taf. u. 3 Fig.)
Jungner, J. R., Ueber den klimatisch-biologischen Zusammenhang einer Reihe Getreidekrankheiten während der letzten Jahre. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 6. p. 321—347.)
Kellermann, W. A. and Jennings, O. E., Flora of Cedar Point. (Ohio Natural. Vol. IV. 1904. p. 186—190.)
Krüger, Friedrich, Untersuchungen über den Gürtelschorf der Zuckerrüben. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. IV. 1904. Heft 3. p. 254—318. 1 Taf. u. 9 Fig.)
La plaga del Cafeto en el Estado de Oaxaca. Mexico. Boletin de la com. de Parasitologia agricola. T. II. 1904. N. 5. p. 207—276. 4 M.
Leavitt, R. G., Trichomes of the root in vascular cryptogames and angiosperms. (Proc. Soc. nat. hist. Boston 1904. 41 p. 4 Taf. 4°. 2,50 M.
Lewis, E. J., The oak galls and gall insects of epping Forest. (Essex Naturalist. T. XIII. 1904. p. 161—174.)
Longyear, B. O., A preliminary list of the saprophytic fleshy fungi known to occur in Michigan. (Rep. Michigan Acad. Sc. IV. 1904. p. 113—124.)
Mathiasch, Josef, Ueber die Reblaus in der Wachau. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 5. p. 43—44.)
Matzdorff, C., In der Präsidentschaft Madras beobachtete Krankheiten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 6. p. 352.)
Mally, C. W., The fruit fly. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXV. 1904. N. 6. p. 647—662. 1 Taf. u. 1 Fig.)
Maxwell-Lefroy, H., El Barreno (Diatraea saccharalis) de la Caña de Azucar. Mexico 1904. 39 p. 8°. 10 Fig. (Comis. de Parasitol. agricola.) 1,50 M.
Mayr, H., A fungus and some Indian trees within German Forests. (Indian Forest. Vol. XXX. 1904. N. 5.)
Mazière, V., Quelques maladies et insects nuisibles au pêcher. (Journ. Soc. Rég. hort. Nord de la France. XXIV. 1904. p. 95—96.)
Meyere, J. C. H. de, Een sinaasappelparasiet. De Natuur. XXIV. 1904. p. 146—148.)
Nippeiller, Die Reblausgefahr. (Das Weinblatt. Neustadt a. d. Haardt. Jg. II. 1904. N. 49. p. 425—426.)
Noack, F., Ueber die Krankheiten tropischer Nutzpflanzen. [Ref.] (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIV. 1904. Heft 5. p. 266—281.)
—, Phytopathologische Beobachtungen aus Belgien und Holland. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XIV. 1904. Heft 6. p. 347—352.)
Nussbaum, H. Chr., Beiträge zur Bekämpfung der Holzkrankheiten. (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905. Heft 2. p. 218—238.)
Nüsslin, O., Leitfaden der Forstinsektenkunde. Berlin 1904. XVI, 454 p. 8°. 356 Fig. 10 M.
Otto, Richard, Weitere Beobachtungen von durch kochsalzhaltiges Abwasser verursachten Pflanzenschädigungen. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIV. 1904. Heft 5. p. 262—263.)
Potter, M. C., On the brown-rot of the Swedish turnip. (Journ. board Agric. X. 1904. v. 314—318. 1 Taf.)
Ravaz, L., La brunissure de la vigne. Cause conséquences, traitement. Paris (Masson) 1904. 8°. 3 Taf. u. Fig.
Reh, Aus der pflanzenpathologischen Versuchsstation zu Geisenheim. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIV. 1904. Heft 5. p. 281—282.)
Rivera, M. J., El Bruco de las arvejas (Bruchus pini); desarallo i medios de combatirlo. Valparaiso 1904. 20 p. 8°. 6 Fig. 1,60 M.
Scale insect on plum trees. (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 9. p. 557—558.)
Sclerotium disease. (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 9. p. 555—557. 1 Fig.)
Smith, Erwin F., Ursache der Cobb'schen Krankheit des Zuckerrohrs. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. 1904. N. 22/23. p. 729—736.)
Solereder, Ueber Hexenbesen auf Quercus rubra L., nebst einer Zusammenstellung der auf Holzpflanzen beobachteten Hexenbesen. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 1. p. 17—23. Fig.)
Somcroy, P. V., The spike disease among Sandal. (Indian For. Vol. XXX. 1904. N. 4.)
Sorauer, P., Erkrankung der Phalaenopsis amabilis. (Ztschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIV. 1904. Heft 5. p. 263—266.)
Spechnev, N. N., Die pilzlichen Parasiten des Theestrauchs. (Arb. bot. Garten Tiflis 1904. 83 p.) [Russisch.]
Stengele, Der Wurzeltöter des Blauklees. (Wochenbl. d. landwirtsch. Ver. i. Gr. Baden. 1904. N. 44. p. 596—597.)

The cockchafer (Melolontha vulgaris) and its relation to forestry. (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 9. p. 558—559. 2 Fig.)
Theobald, F. V., Injurious and beneficial slugs and snails. (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1905. N. 10. p. 594—602. 2 Fig.)
The Mosquito-blight of tea. (Trop. Agric. Colombo 1904. N. 8.)
The Cabbage root fly (Phorbia brassicae). (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 6. p. 352—355.)
The Colorado beetle in Hereford. (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 7. p. 435—436.)

Inhalt.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Referate.

Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

K. Agrikulturbotanische Anstalt in München.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 9|10.

The cytolytic enzyme produced by Bacillus carotovorus and certain other soft rot bacteria.

By **L. R. Jones**,

Professor of Botany in the University of Vermont.

An account of our studies upon the soft rot of the carrot caused by Bacillus carotovorus was published in this journal three years ago[1]). The following statements occur therein.

„Wahrscheinlich werden weitere Studien über die bakterielle Weichfäule von Vegetabilien zu der Entdeckung vieler ähnlicher Organismen führen, von denen jeder fähig ist, eine größere Reihe von Wirtpflanzen zu befallen. Es ist sicherlich von Wichtigkeit, sowohl vom Gesichtspunkt der abstrakten Bakteriologie, als von der Pflanzenpathologie aus, daß sie vollständig bekannt werden. . . . . . Die mikroskopische Untersuchung des faulenden Möhrengewebes hat gezeigt, daß der Organismus in die Intercellularräume eindringt und sich darin mit ungeheurer Schnelligkeit vermehrt. Die mittleren Lamellen der ausliegenden Zellen erscheinen erweicht oder zerstört durch die Ausscheidung von Extrakten der Bakterien, denn in ergriffenen Geweben findet Isolierung der Zellen statt. Das Protoplasma in solchen isolierten Zellen ist zusammengefallen, aber man hat keine Bakterien in den Zellen von frisch desorganisiertem Gewebe bemerkt. Diese Zerstörung der Intercellularsubstanz rührt wahrscheinlich von einem Enzym von der Natur der Cytase her . . . .“

The correctness of the first suggestion has already received ample proof both from further unpublished studies on soft rot organisms in our own laboratory and from several publications dealing with these,

---

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 12 and 61. For a more detailed account of the same see Report Vermont Experiment Station. XIII. 1900. p. 299.

The present publication deals with a direct continuation of the earlier studies and the reader is referred to the former publication for details relative to the source and character of the organism, culture methods, etc.

Most of the results here given were embodied in a paper read Dec. 1902 before the Society for Plant Physiology and Morphology, Washington, D. C. Since the work was undertaken papers have been published by Spieckermann, Van Hall and Potter dealing with some of the same questions. Reference to these is made later in our text. Since our own studies were largely completed before these came to our hands it follows that the conclusions where they are identical are the more firmly established. Where our results differ from any of theirs we have carefully repeated the work and have satisfied ourselves of the correctness of our position.

This work forms one part of a comparative study of various soft-rot bacteria which has been conducted in cooperation with Messrs. H. A. Harding and F. C. Stewart of the Geneva, N. Y. Experiment Station and W. J. Morse of our institution. The full details are reserved for a joint publication from these two stations to be made soon.

Much of the study was carried on by the author while in residence at the University of Michigan and he gratefully acknowledges advice from Prof. F. C. Newcombe and also excellent help in many of the details from two student assistants, Messrs. H. D. Bone and L. P. Sprague in the work done in his own laboratory.

including those of Townsend[1]), Harding and Stewart[2]) and Harrison[3]) in America and Spieckermann[4]), Van Hall[5]) and Appel[6]) in Europe.

A fuller understanding of the wall-dissolving or other enzymes produced by these bacteria is desirable for two reasons. First, because the parasitism in each case seems dependent upon enzyme production; second, because these organism are so similar as to make the question of their specific relationship an extremely complex one which must be settled largely by appeal to physiological characters and it would seem that enzyme production might prove of value for such differential purposes.

It is also of general interest to learn whether or not these bacterial cytolysts are identical with the cytolytic enzymes known to be developed by certain fungi, germinating seeds and pollen tubes. This latter question has been clearly raised by Green[7]), who entertains the belief that these so-called "cytases" include two distinct kinds of enzyme.

The action of the organism upon the tissues of the host plant.

This was discussed in our earlier publications. Our later studies have confirmed the earlier conclusions that the action leads to the death of the cells and to the solution of the middle lamellae of the parenchymatous tissues and leaves an undissolved residual wall through which the organisms do not pass. This strictly intercellular invasion is in accord with observations made by Spieckermann and Van Hall upon their similar organism and also by Appel but is opposed to that of Potter[8]) who reports penetration of the cell cavities.

As seen by the naked eye the invasion is marked by a rapid soft rot of the parenchymatous tissues, accompanied by a water-logged appearance and often with discoloration. The boundery between invaded and sound tissues is always clearly defined. Cuticularized and lignified tissues are unaffected.

Under the microscope the collapse and evident death af the protoplasm is seen to occur promptly, and co-incidentally with the following changes in the cell-membrane. There is a loss of refractiveness in the

1) Townsend, C. O., An unpublished paper on a bacterial soft rot of the Calla. Read before the Society for Plant Physiology and Morphology, New York. Dec. 1901); A soft rot of Calla Lily. (U. S. Dept. Agric. Bureau Plant Industry. Bulletin 60. June 30, 1904.)

2) Harding, H. A. and Stewart, F. C., A bacterial soft-rot of certain cruciferous plants and Amorphophallus simlense. (Science. N. S. Vol. XVI. 1902. p. 314.

3) Harrison, F. C., Preliminary report on a new organism producing rot in Cauliflower and allied plants. (Science. N. S. Vol. XVI. 1902. p. 152.)

4) Spieckermann, A., Beitrag zur Kenntnis der bakteriellen Wundfäulnis der Kulturpflanzen. (Landw. Jahrb. von Thiel. 1902. p. 155.)

5) Van Hall, C. J. J., Das Faulen der jungen Schößlinge und Rhizome von Iris florentina und Iris germanica. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIII. 1903. p. 129.)

6) Appel, Otto, Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit und die durch Bakterien hervorgerufene Knollenfäule der Kartoffel. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Landw. u. Forstw. am Kais. Gesundheitsamt. Bd. III. 1903. p. 364.)

7) Green, J. Reynolds, The soluble ferments and fermentation. 2. edition. 1901. p. 105.

8) Potter, M. C., On the parasitism of Pseudomonas destructans. (Proc. Roy. Soc. London. Vol. LXX. 1902. p. 393.)

inner lamellae of the membrane (i. e. the portion lying between middle lamella and cell cavity) which is accompanied by its strong swelling, often to twice the original thickness, and the appearance of delicate lamination.

The middle lamella scarcely changes its refractive character and is therefore brought out in sharp contrast with the inner lamellae. Neither does it swell, but instead it soon melts away, disappearing first in its thinner parts while the thickened masses at the angles of the cells persist longest but ultimately dissolve also.

Before the latter are all dissolved the cells lose their cohesion, i. e. the tissues are fully rotten. Thin sections of carrot or turnip tissue immersed in culture broths or the enzyme solutions (to be described later) generally pass through the above changes in from ten minutes to one hour's time. The disappearance of the middle lamella marks the completion of all visible action. The swollen remains of the inner lamellae are not further acted upon even after many days and give the characteristic cellulose reaction with chlor-zinc-iodide.

In order to follow some of these details more carefully, blocks of carrot and of turnip tissue in process of invasion by the organism were fixed in absolute alcohol, imbedded, sectioned and stained in various ways. These have shown that the swelling of the walls and the partial solution of the middle lamella occurs some distance, often ten cells, in advance of the actual invasion by the organism. Such sections have also shown that the middle lamella like the inner lamella shows a laminated structure when partially dissolved.

Briefly, then, the action consists primarily in the rapid and complete solution of the middle lamella, or pectic layer, of the wall. This is accompanied by the swelling of the inner lamellae, or hemicellulose layers and the revelation of a laminated structure in them which is evidently due to the occurrence of soluble pectic layers alternating with the insoluble hemicellulose layers. The hemicellulose residuum although evidently softened still serves to debar the organisms from entrance into the cell cavities, no organisms having been observed in the interior of either the cells or the vessels of unmutilated tissues, even in advanced stages of decomposition and when the intercellular spaces were crowded with the organisms.

Careful tests have been made at various times and with cultures in different media for evidence of diastase (amylase) but none has been found.

This action upon the cell membranes was evidently of an enzymic nature. The chief task we set before ourselves was to isolate this enzyme from the living organism and study its characteristics. Five methods have been tried for accomplishing this separation: heat, filtration, the use of germicides, diffusion, precipitation with alcohol.

The first three of these methods have involved in all cases alike the following procedures: The cultivation of the organism in beef or vegetable broths for several days; treatment of such broth cultures aiming to kill or remove the bacilli without injury to the enzyme; determination by trial transfers of the sterility of the broth so treated; in case sterility was proved, the testing of its cytolytic activity by immersion in it, under sterile conditions, of vegetable tissues. In all cases control trials were made with the uninoculated broths or solu-

tions of the chemicals under trial to preclude the possibility of cytolytic action by these alone.

We will now very briefly summarize the results obtained by each of these five methods, leaving further details for elucidation in our later publication.

Separation of the enzyme from the living bacteria by heating.

Broth cultures of Bacillus carotovorus are sterilized by ten minutes exposure to a temperature of 51° C. Previous students[1]) of cytolytic enzymes have found them to be destroyed at about 60° C. It seemed probable, therefore, that by heating broth cultures to some intermediate temperature one might kill the bacteria and leave the enzyme active. This was attempted in a series of tube cultures, 10 ccm each, heated by immersion in a water bath. The results were uniform and satisfactory. Cultures so exposed at each 54, 55, 58, 60, 62, 63, 64, 65, 68, 73° were sterilized. Subsequent trial showed that cytolytic activity remained in the broths so heated until 62° was passed when it was lost. There was however some weakening of the cytolytic action by such heating at 54° and much more at 58°. Slight activity persisted in broths heated at 60°, and a trace at 62°. Above this there was none. In brief then there was slight inhibition of activity as a result of such heating for ten minutes at 54°, decided inhibition at 58°, and total inhibition at 63°. A further discussion of temperature relations occurs later in this article.

Separation of the enzyme from the bacteria by filtration.

The Pasteur-Chamberland filter was used and the usual precautions taken to prove the continued sterility of the filtrate. In all our trials cytolytic activity has been found in the sterile filtrate, and the action upon vegetable tissues was indistinguishable in character from that occurring in the presence of the living organism. The rate of this cytolytic action in the filtrate was however decidedly less than that in the original broth. In some cases this loss was estimated at 90 per cent, but in none was it complete.

These results may profitably be compared with those of Potter[2]), Laurent[3]) and Van Hall[4]), each of whom found similar bacterial filtrates to retain their cytolytic activity, whereas Spieckermann[5]) found the sterile filtrate from cultures of his kalerot organism to have entirely lost its enzymic activity. If one seeks an explanation of this loss through filtration it may be attributed to either of two things, first, the retention of only that portion of the enzyme which is still closely associated with the organisms, i. e. within the cells or upon their surfaces; or, second, the further removal of enzyme which has

1) Cf. Green, loc. cit. p. 98.
2) Potter, M. C., On a bacterial disease of the turnip. (Proc. Royal Soc. London. Vol. LXVII. 1900. p. 448.)
3) Laurent, E., Recherches expérimentales sur les maladies des plantes. (Ann. Inst. Past. T. XIII. 1899. p. 1.)
4) Van Hall, C. J. J., Bacillus subtilis und B. vulgatus als Pflanzenparasiten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 642.)
5) Spieckermann, loc. cit.

already passed from the organisms into solution in the broth. The latter theory is favored by Friedenreich's observations which also aid in reconciling the apparent discrepancies between Spieckermann's results and those obtained by ourselves and others. Friedenreich[1]) working with cheese extracts found that porcelain filters might retain as high as 90 percent of the protein matter which was in solution and that the amount so retained was much greater with bougies which had been used repeatedly than with new ones. In some of his trials the milk enzyme galactose was entirely removed by filtration.

Separation of the enzyme from the living bacteria by germicides.

In our attempts to accomplish this use has been made of chloroform, phenol, thymol and formalin. Trial additions of various amounts of each of these have been made to broth cultures of the carrot-rot bacillus and the effects noted upon the life of the organism and the activity of the enzyme.

Formalin. Merck's formalin was used in all cases. It has been found that both the bacillus and the enzyme are extremely sensitive to this chemical. Since, however, the bacillus is slightly more so, it is possible, by carefully regulating the amount, to sterilize the broth and leave the enzyme active. The addition of 0,1 percent of formalin to beef broth tube cultures of B. carotovorus sterilizes, providing there is thorough agitation. More formalin, viz., 0,2 percent or more, may be necessary to sterilize if the agitation is less thorough. Complete inhibition of the enzymic (cytolytic) activity in such culture broths occurs where 0,6 percent or more of formalin has been added. Amounts as low as 0,3 percent retard the action to a marked degree and retardation was perceptible when even 0,06 percent was used, although this is not enough to sterilize with certainty. Trials where the formalin was added to aqueous solutions of the enzyme-containing alcoholic precipitates (see discussion later) gave results in accord with the above, viz., a slight but appreciable retardation from additions of 0,5 percent and almost complete inhibition where 0,5 percent was used.

In all of the above cases the determinations of enzymic activity were made a day or more after the formalin was added to the broth. After the completion of these trials Spieckermann's[2]) report came to hand in wich he states that 0,2 percent of formalin sterilized cultures of his kale-rot organism and did not inhibit the action of the enzyme, at least for several hours. This statement led us to repeat our observation with the carrot-rot bacillus that we might learn the relative rapidity of the injurious action of formalin upon each the organism and its cytolytic enzyme. The details must await our later publications. The action was as Spieckermann had observed, more rapid upon the bacillus than upon the enzyme. Thus, 0,2 per cent of formalin caused appreciable injury to the organism at the end of about three hours, as shown by delay in the growth when transfers were made from such treated broths. The lessening of cytolytic activity in such

1) v. Friedenreich, E., Landw. Jahrb. der Schweiz. Bd. XIII. 1899. p. 169. Ann. Agr. Suisse. T. I. 1900. p. 77.

2) Spieckermann, loc. cit. p. 166—167.

broths became apparent only after a longer delay, viz., nine hours more or less.

These results showed that formalin cannot be employed as an agent for the purposes we wished since if one makes the studies within a few hours after the additions of the formalin sterility of the culture broths is not insured; if, on the other hand, one waits much longer the activity of the enzyme may be impaired.

Bliss and Novy[1]) have shown that fibrin which has been acted upon for a short time by formalin resists thereafter the action of proteolytic enzymes. Their observations led us to wonder whether any part of the retarding influence of formalin observed in our experiments might be due to similar action of the formalin upon the cell wálls of the vegetable tissues rather than upon the enzyme. Trials showed that this is not the case, since vegetable tissues immersed in formalin and later washed in water were decomposed in the presence of the enzyme as readily as were fresh tissues.

Phenol. Numerous trials of this gave satisfactory results. A crystal about one-half the size of a pea added to a 10 ccm broth culture, i. e. making approximately 0,5 percent solution, well agitated, has in all cases secured sterility and caused no appreciable lessening of the activity of the enzyme.

Thymol. This has given variable results, sometimes sterilizing and sometimes not. These irregularities are, we believe, due to the slight solubility and slow diffusibility of thymol in the broth. It was found that powdered thymol floats on the surface of the broth even though well shaken. This has sterilized the upper portions of broth tubes, when added in excess, while living organism persisted indefinitely, at least for many days, in the depths of such tubes, providing they were not repeatedly agitated. Thorough agitation did, however, secure sterilization where 0,2 percent or more of thymol was used. In no case did thymol cause appreciable lessening of the activity of the cytolytic enzyme.

Chloroform. Since this is the agent usually employed for the inhibition of bacterial growths in the study of enzymes, careful trials were made to determine its relation to the activities of both enzyme and bacillus. Here again numerous details must await our later publication. The general results were as follows: The addition to beef broth cultures (the ordinary tube cultures stoppered with cotton) of Bacillus carotovorus of as large amounts of chloroform as 50 percent did not sterilize where unaccompanied by thorough agitation, i. e. such cultures may continue to increase in cloudiness and transfers show living organisms for days there-after. In all trials, however, when 10 percent or more of chloroform was added to broth cultures and these were very thoroughly agitated sterility was secured. With less than 10 per cent the results were not constant. In no case has chloroform caused appreciable lessening of the cytolytic action in such broths, nor has it in trials where we have added it to the aqueous solution of the enzyme-containing alcoholic precipitate to be discussed later.

A comparison of the results obtained by other investigators who have tested these chemicals upon similar organisms shows a lack of

---

1) Bliss, C. L. and Novy, F. G., Action of formaldehyde on enzymes and on certain proteids. (Journ. Exper. Medicine. Vol. IV. 1899. p. 52.)

conformity, especially with chloroform. Smith[1]) was the first to emphasize the fact that many bacteria are surprisingly resistent to the germicidal action of chloroform and thymol. Potter[2]) did not succeed in sterilizing cultures of his Pseudomonas campestris by the use of formalin, thymol or chloroform. Spieckermanns[3]) results with formalin have already been reviewed: he also found chloroform an effective agent for sterilizing cultures of his kale-rot organism and observed no retardation of its cytolytic enzyme thereby. Van Hall[4]), on the contrary, reports that even 0,5 percent of chloroform acting only fifteen minutes destroyed all traces of cytolytic activity in broth cultures of his Bacillus omnivorus. These differences are not easily reconcilable. We are inclined to attribute the destruction of the enzyme in Van Hall's exceptional experience to some agency other than the chloroform. In other cases the differences may be explained in part, if not altogether, by differences iu manipulation, especially as to amount of agitation. Certainly Smith's conclusions are justified that chloroform cannot be relied upon implicitly as a germicidal agent, as has heretofore been done so frequently in enzyme studies. Rightly used, it has, however, proved the most satisfactory germicidal agent in our studies.

Separation of the enzyme from the bacteria by diffusion.

As already described, the softening of the vegetable tissues occurs several cells in advance of the actual point of invasion of the carrot-rot bacillus. This is also in accord with the observations of several other investigators of soft-rot organisms and indicates that the diffusion of the cytolytic enzyme occurs quite rapidly. Van Hall's[5]) recent experiments with Bacillus omnivorus showed this to occur through layers of sterile agar. We made similar trials with cultures of B. carotovorus and secured like results.

The method as we developed it consisted in implanting the organism in the middle of a poured plate of stiff (2 %) nutrient-broth agar, the agar layer being about 5 mm thick. On the third day, when the colony was about 1 cm in diameter, this sheet of agar bearing the colony was transferred to the sterile surface of a freshly cut slice of living turnip root, with precautions against contamination. Repeated trials have shown a rapid rotting of the turnip tissues underlying the colony with discoloration, death of the protoplasm and cytolytic action exactly as occurs in the presence of the bacteria. Transfers of bits from this underlying rotten turnip tissue have, however, in all cases proved its sterility. The action must therefore be attributed to the soluble and diffusible products of the bacterial colony on the supernatant agar.

Similar experiments in which the agar layer carrying the bacterial colony was superimposed upon the surface of a sterile layer of gelatine have shown a corresponding liquefaction of the gelatine underlying

1) Smith, Erwin F., Growth of bacteria in the presence of Chloroform and Thymol. (Science. N. S. Vol. XIII. 1901. p. 327.)
2) Potter, M. C., Proc. Roy. Soc. Vol. LXVII. 1900. p. 448.
3) Spieckermann, loc. cit. p. 166.
4) Van Hall, Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. XIII. 1903. p. 129—144.
5) Van Hall, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 649.

the colony, which again must be attributed to the diffused products, since the liquified gelatine was sterile.

Separation of the enzyme from the living bacteria by precipitation with alcohol.

In this work the broth culture of the desired age was filtered in one or another way (see details below), then 95 percent alcohol was added, the flocculent precipitate collected, dried, and finally redissolved in water as desired for study. In connection with this work several questions arose as to details of methods, and experimental studies were undertaken to decide these. The following is a summary of the results.

Filtration. The alcohol throws down, along with the enzyme, the various proteid contents of the culture broths and the precipitate also carries down the bodies of the bacteria. It is therefore plainly desirable (previous to precipitation) to remove from the broth by filtration such of this other matter as one can without lessening the enzyme content. Filtration through porcelain was followed by Potter in his work. We tried this also in our earlier expermiments, but as already explained we found the enzyme content of the filtrate so much reduced thereby that we discontinued it. Thereafter we were content to filter simply through paper which removes only the coarser deposits from the culture broths. There is no objection to the employment of paper filters in the manipulations with this enzyme, since it is inactive upon cellulose.

The most favorable strength of alcohol. B. carotovorus is killed by 25 percent alcohol. Even this strength will throw down a considerable precipitate, and trials were made to determine the optimum per cent for securing the enzyme and also to learn whether a purer enzyme could not be obtained by some method of fractional precipitation or reprecipitation. Without here giving details we will merely state that the precipitate secured in the presence of 80 percent alcohol was found to include practically all obtainable by any higher or lower strength, and also that the enzyme so secured showed a maximum of activity. Nor was the enzyme much purified when the precipitate from 80 percent alcohol was dissolved in water and again precipitated with alcohol.

Method of drying. The method commonly recommended for securing enzymes is to wash the precipitate in absolute alcohol and dry in partial vacuum over sulphuric acid. This process has given excellent results in our trials, but equally good have been secured more expeditiously by drying quickly in a gentle current of warm air, not above 40 ° C. To secure more rapid drying the precipitate should be broken up and occasionally stirred. Spieckermann[1]) washed the precipitate in absolute alcohol followed by ether, presumably to expedite the dyring. We tried this method and found our enzyme much weakened. Absolute alcohol followed by chloroform, on the other hand, gave an enzyme of full activity but offered no advantages over drying directly from the 95 percent alcohol.

Strength of solution. The dry precipitate obtained from beef broth cultures with 80 percent alcohol has averaged about 0,35 percent

1) Spieckermann, loc. cit. p. 165.

of the weight of the broth. When this is added to water it swells and is partially dissolved, and the solution so obtained shows cytolytic activity of exactly the same character as does the living broth cultures. Such solutions were used much in our investigations and two important questions presented themselves: first, the relation of the dilution of this aqueous solution to its cytolytic activity; second, the relative enzymic activity of such aqueous solutions of the precipitate in comparison with that of the original broth cultures. Here again the details must await our later report and only the general results now be given. Regarding the first question, it has been found that the cytolytic activity increases with the concentration of the solution. Thus where we compared 1 percent, 5 percent and 10 percent additions of the precipitate to distilled water a like amount of cytolytic action was secured in the following periods of time, respectfully: with the 1 percent solution, in 25 minutes; with the 5 percent in 15 minutes; with the 10 percent in 10 minutes. This shows that the enzymic activities of these solutions stood to each other in the ratio of 6 : 10 : 15. In our practice we have used the 5 percent solution almost altogether.

The second question is of especial interest since it involves the query as to whether the enzyme is injured by alcoholic precipitation. As already stated, the cytolytic action of the solution, as shown alike by macroscopic and by microscopic appearance, is of the same character as that occurring in the original broth cultures. One might expect some loss or weakening of the enzyme in the process of precipitation, desiccation and re-solution, even if the enzyme is not altered in its essential composition. As a matter of fact, however, our trials have shown no appreciable loss in this way. The precipitate, whether from beef broth or vegetable juice cultures, when brought into an aqueous solution of the same volume as that of the original culture has shown cytolytic activity equalling that. Spieckermann[1]) has reported similar results with his kale-rot organism.

The relation of cultural conditions to enzymic production.

1) The composition of the medium. The vigor of development of the carrot-rot organism varies widely in different media, and it is of much interest to learn whether there are corresponding variations in enzyme production. De Bary[2]) suggested that the disorganization products of the cell walls of the host plant are probably the chief source of food of the soft-rot fungus Peziza sclerotiorum and that these are rendered available by the wall-dissolving enzyme. Ward[3]) concluded that in the physiologically similar lily Botrytis the production of this cytolytic enzyme is a starvation phenomenon. This idea is, moreover, in general accord with the conclusion of Brown and Morris[4]) that diastase secretion in germinating barley is excited by cellular starvation. We were led to make various experiments to learn whether there is any constant relation between nutrition and amount of enzyme produc-

1) Spieckermann, loc. cit. p. 166.
2) De Bary, A., Ueber einige Sklerotien und Sklerotienkrankheiten. (Bot. Zeitung. Bd. XLIV. 1886. p. 378.)
3) Ward, H. M., A lily disease. (Ann. of Bot. Vol. II. 1888. p. 319.)
4) Brown, H. T. and Morris, G. H., The germination of some of the Gramineae. (Journ. Chem. Soc. Trans. Vol. LVII. 1890. p. 498.)

tion with the carrot-rot bacillus, and, especially whether the production of this cytolytic enzyme is a starvation phenomenon. In these experiments determinations have been made of the enzyme product from cultures in media varying widely in nutritive elements and especially in carbohydrate content. These have included Dunham's peptone solution with and without the addition of carbohydrates, nutrient beef broth with and without the addition of carbohydrates, cooked vegetables entire and the same filtered after cooking so as to remove the cell wall substance and other insoluble parts, and finally living vegetable tissues.

Only the general results and conclusions can be given here. Cultures in the fresh turnips and carrots made an exceedingly vigorous development and the expressed juice from these decaying vegetables has shown a higher enzyme content than has any other medium. On the other hand, Dunham's peptone solution which is a starvation medium for this organism has shown the least enzyme development. The presence of cane sugar favored the development of the bacillus and likewise it increased the enzyme product. Thus, beef broth with 2 percent sugar showed a more rapid growth of the organism and also a greater enzyme product than the same without the sugar. The presence or absence of cell-wall substance in the cooked vegetable media made no difference in the enzyme production.

The conclusions reached are, first, that enzyme production is directly proportional to vigor of development of the organism: second, that there is no evidence that enzyme production is a starvation phenomenon, but rather the reverse; third, we find no evidence that the products of enzymic activity are used as food by the organism, although our experiments are insufficient to justify final conclusions in the latter point. These conclusions are in general accord with those of R. E. Smith[1]) in the case of Botrytis cinerea, since he holds that the fungus can only develop its cytolytic enzyme in the presence of abundant food.

2) Age of culture. The enzyme product has been compared in beef and vegetable broth cultures of various ages from one to seventeen days. It has been found that the amount increases with the age of the culture up to a certain point, then remains about constant. This increase of enzyme content corresponds to the rate of development of the cultures as shown by the degree of cloudiness of the broth, ceasing when it passes its maximum. The conclusion already formulated seems again justified that enzyme production by this organism is not a starvation phenomenon but rather the normal accompaniment of vigorous development under favorable nutritive conditions. Moreover, it is evident that the enzyme is a fairly stable compound which, following its excretion into the broth, tends to accumulate with the age of the culture.

3) Temperature. The optimum temperature for growth of this bacillus is 28—30° C, i. e. broth tubes cloud more rapidly at this temperature than when above or below it. We expected, in the light of the results just described, to find this temperature the optimum for enzyme production also. It has been found, however, that cultures at laboratory temperature, 18—22° C, develop a greater amount of enzyme than do parallel cultures grown at a constant temperature of 30° C.

---

1) Smith, R. E., The parasitism of Botrytis cinerea. (Bot. Gaz. Vol. XXXIII. 1902. p. 421—436.)

Relation of various conditions to the activity of the enzyme.

This has been worked out largely with aqueous solutions of the alcoholic precipitate, rather than with living cultures, because of the greater convenience and closer uniformity of trials with such solutions. The relation of strength of solution to its cytolytic activity has already been discussed. The more important of the other matters worked out are as follows:

1) Effect of long keeping. As already stated, the enzyme seems to be a stable compound which persists unchanged for a long time in the culture broths. It can also be preserved indefinitely as the dry precipitate. Repeated trials with such after one or two months keeping have shown no alteration in their activity, and in one case a careful re-trial of such a precipitate two years old has shown no appreciable loss from such long keeping.

2) Temperature. A series of careful comparisons has shown that the aqueous solution of the precipitated enzyme exercises very little cytolytic action at 2° C; the activity is good at 20°, better at 32°, best at 40—45°. At 48° it is considerably inhibited, and it is wholly checked at 51°. Thus, action was practically twice as rapid at 42° as it was at 22°, and at 32° it was about midway in activity between the higher and the lower degrees. In these temperature relations therefore it is similar to the cytolytic enzyme of germinating barley as recorded by Brown and Morris[1]). Holding at 49° for an hour's time was not injurious to the enzyme, i. e. although inhibited while at that temperature, it resumed normal activity thereafter as the temperature was lowered. When, however, the temperature was carried to 51° or above the enzyme was destroyed in such solutions.

In this connection it may be recalled that the trials, discussed earlier in this article, showed that in the original broth cultures the point of thermal destruction is some ten degrees higher. Similar variations in the point of thermal destruction under changed conditions have been recorded for other enzymes[2]). Thus, invertase withstands a temperature twenty-five degrees higher when in the presence of cane sugar, upon which it acts, than in its absence. Woods[3]) has shown that the oxydizing enzymes of the maple leaf withstand a higher temperature when in the juices of the plant than in the presence of alcohol. Thinking that the presence of the vegetable tissues upon which it is active might restore to our precipitated enzyme its ability to withstand the higher temperature, comparative trials were made at 51° where pieces of carrot were immersed in the solutions during the heating process. The enzyme was nevertheless destroyed, alike in the presence or the absence of the vegetable tissue.

3) Effects of alkalies and acids. Our earlier studies showed this bacillus to be a facultative parasite upon various vegetables, all of which have an acid cell sap. In the course of its invasion the reaction of the vegetable juice is rendered alkaline. It is of interest, as bearing upon the question of parasitism and resistance thereto, to learn the

---

1) Brown and Morris, loc. cit. p. 502.

2) Green, loc. cit. p. 448.

3) Woods, A. F., The destruction of chlorophyll by oxidizing enzymes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 745—754.)

relation of the reaction of the plant juices or other solvent to the activity of the enzyme. For learning this the alcoholic precipitate, which is neutral, was used. The relative cytolytic activity of this upon carrot tissues was determined when it was dissolved in water along with various acids or alkalies. In all the following discussion the strength of these is given as determined by titration with phenolphthalein against normal solutions.

Alkali. It was found that sodium hydroxide titrating — 2,0 per cent inhibited slightly and that this inhibition increased with increase of alkalinity up to — 10,0 percent when it was total.

Acids. A very small addition of hydrochloric acid favored the enzymic activity, about + 0,5 percent being the optimum. The difference between this and the neutral solution was, however, but slight. When the reaction reached + 2,5 percent inhibition was practically complete.

Various organic acids were tested in like manner, including oxalic, acetic, formic, tartaric, malic and citric. In no case did any of these favor the activity. When the titration strength was below + 0,5 per cent they were practically without effect. Strengths of + 1,0 per cent and above distinctly inhibited in all cases, and from + 5,0 percent to + 10,0 percent caused total inhibition. It should, of course, be borne in mind that this degree if acidity as expressed in titration percentage is in all cases a mild one, amounting to 0,5 percent and less when expressed gravimetrically.

4) Relation of plant juices. The freshly expressed juice of some of the most susceptible vegetables was used as a solvent for the enzymic precipitate and these solutions compared with those in pure water. It was found that in all cases tried these juices, which are, of course, acid, lessened the cytolytic activity as compared with the water. Thus, the juice of carrot, titrating + 2,0 percent, and of radish, titrating + 0,75 percent, both slightly retarded the enzymic action, and there was still appreciable retardation when these juices were diluted to one-half strength with water. The juice of ripe tomato which is more strongly acid, + 5 percent, was more decidedly inhibitory, reducing the enzymic activity to approximately one half of that in the aqueous solution, i. e., there was as complete cytolytic action at the end of fifteen minutes in the aqueous solution as occurred in one-half hour in the solution in tomato juice. This retardation was lessened when the tomato juice was diluted with one-half water.

5) Relation to other bacterial products. As a result of his observation upon the bacterial soft rot of the turnip, Potter[1]) suggested that the oxalic acid produced by his organism, Pseudomonas destructans, may play some part in the dissolving of the middle lamella. Our results, as given above, show that neither oxalic nor any other of the acids tested so function with the carrot-rot organism. Indeed this produces no oxalic acid. It does, however, produce a small amount of some unidentified organic acid, especially in media rich in sugar. The following experiments were made to determine whether this acid or any other product of the bacterial metabolism favors the cytolytic action. Culture broths of various kinds in which the organism had developed were heated to 80° C, which at the same time sterilized them and destroyed their enzyme content. These were then used as solvents of

---

1) Potter, Proc. Roy. Soc. Vol. LXVII. 1900. p. 451.

the enzymic alcoholic precipitate and the cytolytic activity of such solutions was compared with solutions in pure water. More or less inhibition was apparent in every case where a culture broth was used as the solvent as is shown in the following tabular summary of results.

Nature of solvent	Its reaction	Effect on enzyme
Carrot broth, 12-day culture	slightly alkaline	slight inhibition
Beef broth, 7-day culture	„ „	more inhibition
Dunham solution, 16-day culture	neutral	much inhibition
Dunham solution plus 2 per cent cane sugar, 16-day culture	acid	greatest inhibition

There is no evidence here that the acid or other products of bacterial origin aid in the cytolytic action of the enzyme; indeed, the contrary seems indicated. It is worthy of recall in this connection that the chief cytolytic action occurs in advance of the actual invasion by the organism and where the enzyme has passed by diffusion beyond the zone where there is any such accumulation of bacterial products as were present in the culture broths used above.

The cytolytic action of Bacillus carotovorus compared with that of various other organisms.

At the beginning of this article attention was called to our conviction that this carrot-rot bacillus is only one of a large number of closely related organisms capable of functioning similarly as wound parasites. Since our earlier publication we have continued studies upon this class of organisms in cooperation with Messrs. H. A. Harding and F. C. Stewart of the Geneva, New York, experiment station, and W. J. Morse of the Vermont station. The full results of these studies will appear soon as a joint publication from these two stations. Previous to this publication it will not be feasible to discuss the details. We will merely state that we have had under observation some forty strains of organisms isolated in one or the other of these laboratories from the rotting tissues of cabbage, turnip or Amorphophallus simlense, and in addition five organisms from other sources, as follows: Harrison's Bacillus oleraceae, a cauliflower-rot organism from Ontario; Spieckermann's organism of the soft-rot of kale from Germany; Van Hall's two iris-rot organisms from Holland, Bacillus omnivorus and Pseudomonas iridis; and an organism sent us from Král's laboratory, Prag, as Pseudomonas destructans, Potter's white soft-rot of turnip from England. This latter as we have it proves to be a bacillus, and therefore cannot be Potters' original organism.

Comparative trials have shown that these soft-rot organisms, although from different vegetables and widely separated regions, are remarkably similar in enzymic activity. The only exceptional one is Pseudomonas iridis, and this as we have it is non-pathogenic. The others all induce similar soft-rots of various vegetable tissues, and from cultures of each a cytolytic enzyme has been secured indistinguishable in kind from that produced by B. carotovorus. The only differences are minor ones in quantity of enzyme production or degree of activity shown. In all alike the action consists in solution of the middle lamella, and stops

short of the complete solution of the cellulose layer of the wall (the invasion of the organisms being strictly intercellular). With all alike there is absence of diastatic (amylolytic) action.

These observations are in general accord with the records regarding these and similar soft-rot organisms heretofore published, with the exception of Potter's. He reports the penetration of the walls by Pseudomonas destructans and the development of a diastatic ferment. We would again call attention to the fact that we have not his original organism.

While the production of this middle-lamella dissolving enzyme is thus characteristic of a numerous class of bacterial wound parasites, we should note in contrast that Smith[1]) has found complete solution of the cell walls to occur in the black-rot of the turnip caused by Pseudomonas campestris. This appears, however, to be a slower action of which the details have not been worked out. That we might compare such complete wall solution with the partial solution shown by B. carotovorus we repeated Newcombe's experiments with Taka-diastase[2]). Our results were in close agreement with those reported earlier by him, showing a rapid solution of the inner or cellulose lamellae of parenchymatous walls followed ultimately by a slower solvent action upon the middle lamella or pectic layer. This action is, therefore, quite different from that occurring with B. carotovorus.

Classification and nomenclature of cytolytic enzymes.

In connection with these studies we have been led to compare the numerous accounts of cytolytic action in literature and to speculate as to the evidences of relationship or difference between the enzymes causing these. Until quite recently it was contended that cellulose fermentation might in some cases be attributed to diastase, i. e. that the distinction between cytolytic and amylolytic fermentation was a doubtful one[3]). Our results have contributed evidence, if such were needed, to establish the correctness of Newcombe's[4]) conclusion that where these two classes of carbohydrate-fermentation occur together, as in germinating barley and with Taka-diastase, it is attributable to the occurence in mixture of two distinct enzymes. Instead of classing the wall-dissolving with the starch-dissolving enzymes the present evidence points rather to the need of more clearly recognizing subdivisions of the "cellulose-enzymes" or "cytases" as they are termed. A fuller understanding of the chemistry of the cell membranes must, of course, precede any such a subdivision that is to be permanently satisfactory. For the present we can, however, recognize the following well-defined groups of elements in the so-called cellulose walls: 1) true celluloses; 2) hemicelluloses; 3) pectic compounds.

Omelianski[5]) has recently shown that even the most resistant of the true celluloses may be dissolved by bacterial action, and he con-

1) Smith, Erwin F., The effect of black rot on turnips. (U. S. Dept. Agric. Bureau plant industry. Bull. 29. 1903.)

2) Newcombe, F. C., Cellulose enzymes. (Ann. of Bot. Bd. XIII. 1899. p. 49—81.)

3) Cf. Grüss, J., Landw. Jahrb. Bd. XXV. 1896. p. 385; Reinitzer, F., Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XXIII. 1897. p. 175.

4) Newcombe, F. C., loc. cit.

5) Omelianski, W., Ueber die Gärung der Cellulose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 193. etc.)

tends that the term "cellulose fermentation" should be applied only to this. The commoner forms of so-called "cellulose-fermentation" really involve only the solution of the second or third of the above groups. Green[1]) stated some three years ago his conclusion from the evidence adduced by Newcombe that the enzymes which act primarily on the middle lamella (pectic compounds) of the wall are of a different class from those acting upon the other portions (hemicelluloses). The logical conclusion to date therefore, is that we must recognize three clearly definable enzymes or enzyme-groups each capable of action primarily upon one of the above-named groups of wall elements. If this is accepted then it will conduce to clearness is we differentiate these by names.

The enzyme of B. carotovorus and the related soft-rot bacteria is an example of those acting strongly upon the pectic compounds but not capable of hydrolyzing either the hemicelluloses or the true celluloses. Following the customary terminology, pectase would be the most appropriate name for this, but unfortunately it has long been used to designate Fremy's clotting enzyme. If one were to accept Cross and Bevan's[2]) term "pecto-cellulose" for these pectic elements of the wall then preference might be given to the name "pecto-cellulase" for the enzyme acting on them. The sufficient objection to this is that the term applies to the hypothetical compound of the non-hydrolyzable cellulose elements with the pectic elements which pass into solution under the influence of this enzyme. The name, if adopted, would suggest an enzyme active upon both of these groups.

The name we would adopt is that suggested by Bourquelot and Herissey[3]), pectinase. It may be objected that they originally applied this name to the enzyme found in barley malt which so changes pectine that it cannot thereafter be clotted by Fremy's enzyme, pectase.

But Bourquelot[4]) later showed that this same extract hydrolyzes the pectic clot, and inferring that the action is due do the same enzyme he extended the conception of the term. This later application of it to the enzyme capable of hydrolyzing the pectic coagulum, including the pectic elements of the cell wall, appears to us to justify its adoption in this sense. A further argument for this position is that its use in this broader sense is finding acceptance with some recent writers.

As already stated, the hydrolysis of the hemicellulose layers of the

---

1) Green, loc. cit. p. 105.

2) Cross, C. F. and Bevan, E. J., Cellulose. London 1895.

3) Bourquelot, E. et Herissey, H., Sur l'existence dans l'orge germe d'un ferment soluble, agissant sur la pectine. (Compt. rend. T. CXXVII. 1899. p. 191.)

4) Bourquelot, E., Sur la pectase. (Journ. pharm. et chem. T. IX. 1899. p. 56.) After the above was written a publication was received from Beijerinck and van Delden, on the Bacteria which are active in flax-rotting (English reprint of paper read at Meeting of Jan. 20, 1904, of Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam). In this the authors conclude that the rotting is due to a bacterial enzyme acting on the pectose layers of the cell walls, and which is probably identical with the enzyme we have studied. They propose the new name "pectosinase" for this enzyme on the ground that it is not identical with the "pectinase" of Bourquelot and Herissey (footnote, p. 7). In a personal letter of August 16, 1904, Prof. Beijerinck states that he now thinks this is "possibly only a more concentrated solution of the malt-enzyme called cytase by Brown, Morris and Escombe, and pectinase by Bourquelot and Herissey", although he adds "the difference is obvious and unexplained by physical influences, etc."

wall was more rapid with Taka-diastase than that of the pectic layer. We believe the evidence adduced by Newcombe must lead one to consider this action as due to the occurrence in the Taka-diastase of a smaller amount of the enzyme pectinase in mixture with a larger amount of another enzyme which acts primarily on the hemicellulose elements of the wall. Accepting this conclusion, what name should be applied to the latter?

The one used by Oppenheimer[1]), cellulase, is too general, since it implies action on all classes of cellulose. The enzyme under discussion acts only on the hemicelluloses, and therefore hemicellulase is the preferable name for it. This is self-explanatory and leaves the name cellulase to be applied either in a general way to all cellulose enzymes, or, as seems preferable to us, reserves it for application to the enzyme capable of hydrolyzing true cellulose which Omelianski has recently shown to exist.

The tendency is now to use the words pectinase and cellulase in a vague way as synonymous with the term cytase, i. e. as applicable to cytohydrolytic enzymes in general. If they be restricted to the more exact usage defined above it leaves the words cytase and cytolyst as convenient and satisfactory terms for use in the broader sense to include in a general or indefinite way all enzymes capable of hydrolyzing the cell walls.

Ueber die sogenannten „Schwefelkörnchen", die man bei der Familie der „Beggiatoaceae" antrifft.

Von Dr. **Andrea Corsini,**

Assistenten am Institut für experimentelle Hygiene am R. Istituto di Studi Superiori (k. Institut für höhere Studien) in Florenz (Direktor Prof. G. Roster).

Mit 3 Tafeln.

Da die neue Gesellschaft, welche Eigentümerin der Thermen von Porretta ist, mich mit der bakteriologischen Untersuchung dieser Heilquellen beauftragt und mir auch kürzlich die Leitung eines Laboratoriums übertragen hatte, das nach richtigen und modernen Grundsätzen mit den Quellen selbst für die verschiedenen heutzutage notwendigen wissenschaftlichen und praktischen Untersuchungen verbunden ist, so bot sich mir Gelegenheit, einen Teil der bakterischen Flora zu untersuchen, die in den gewöhnlichen Laboratorien nur mit Mühe zum Gegenstand der Untersuchung gewählt werden kann, da sie aus Mikroorganismen besteht, die sich vorzugsweise oder ausschließlich in den Mineralwässern entwickeln.

Bekanntlich genießt Porretta seit Jahrhunderten einen wohlverdienten Ruf wegen der Heilquellen, die es besitzt. Unter diesen haben besonders die Schwefelquellen eine hervorragende Bedeutung erlangt; sie strömen reichlich hervor aus mehreren Quellen, die sich voneinander unterscheiden nicht nur hinsichtlich ihres Wärmegrades, sondern auch

1) Oppenheimer, C., Ferments and their action. (Eng. ed.) 1901. p. 187.

in Bezug auf ihren Gehalt an Schwefelwasserstoff und auf die anderen Bestandteile. Nun kann man aber leicht die Beobachtung machen, daß in einigen von ihnen und namentlich in der Quelle „Puzzola" in den Ausflußkanälen auf einer gewissen Strecke von der Ausflußstelle ab an den Stellen, an denen das Wasser langsam abfließt, milchweiße Fäden vorhanden sind oder sich allmählich bilden, die, wenn sie nicht in ihrer Bildung gestört werden, in sehr wenigen Tagen so an Zahl zunehmen, daß sie lange, dichte Büschel erzeugen, die im fließenden Wasser sich wellenförmig bewegen oder die Oberfläche des Wassers selbst in weiter Ausdehnung bedecken, wenn letzteres während seines Durchflusses durch irgend ein Becken stille stehen kann. Offenbar handelt es sich um die sogenannte „Beggiatoa alba", eine sehr gewöhnliche Form, die man oft in schwefelhaltigen Quellen antrifft. Gerade die Beggiatoa ist einer der ersten Mikroorganismen, die zu untersuchen ich mir vorgenommen habe, da sie derjenige ist, welcher, abgesehen von dem wissenschaftlichen Werte, auch einen praktischen Wert darbietet wegen einiger Unannehmlichkeiten, die durch sie entstehen können in Anstalten, in denen man Wasser verwenden muß, worin diese Mikrophyten sich entwickeln; späterhin, am Ende dieser Arbeit, werde ich Gelegenheit haben, eine von diesen Unannehmlichkeiten zu erwähnen.

An dieser Stelle will ich nicht darüber sprechen, in welchen Quellen die Beggiatoaceen sich nachweislich besser entwickelt haben; auch will ich nicht dabei verweilen, die Ursachen davon zu untersuchen, um daraus ein mehr oder weniger richtiges Urteil über ihre Lebensbedingungen herzuleiten; auf diesen Punkt und auf andere hoffe ich bei einer anderen Gelegenheit zurückkommen zu können, wenn ich nämlich im stande sein werde, weitere diesbezügliche Untersuchungen mitzuteilen. Ich will auch nicht ihre bis jetzt bekannten morphologischen Merkmale wiederholen, da sie ja schon von vielen Autoren, die vor mir geschrieben haben, richtig geschildert und sogar in Tabellen mit Abbildungen dargestellt worden sind. Ich will vielmehr sogleich zu meinem Thema übergehen und von den sogenannten „Granulationen" sprechen, die man in den Fäden antrifft, aus welchen die erwähnten Organismen bestehen. — Es handelt sich um die von Gasperini so richtig beschriebenen „ganz feinen sphärischen Körper, die das Licht so stark brechen, daß sie schwärzlich erscheinen; bald finden sie sich zerstreut und in geringer Anzahl vor, bald zu kleinen Gruppen vereinigt. Bisweilen drängen sie sich an einem Punkte dichter zusammen als an einem anderen in nächster Nähe; manchmal bedecken sie dagegen vollständig kleine Flächen oder ganze Strecken von Fäden. Die umfangreicheren Granulationen erscheinen fast wie ein schwarzer Kreis oder wie eine doppelte Einfassung mit einem hellen inneren Raum."

Nachdem verschiedene Ansichten über das Wesen dieser Körnchen geäußert worden waren, entdeckte zuerst Cramer im Jahre 1870 infolge von Untersuchungen, die von J. Meyer-Ahrens bestätigt wurden, ihre chemische Beschaffenheit, da er sah, daß sie sich in Salzsäure etc. nicht lösten, wohl aber in einem Ueberschuß von absolutem Alkohol und Schwefelkohlenstoff löslich waren; daraus ergab sich die Schlußfolgerung, daß es sich um Schwefel handelte. Cohn wiederholte 1875 die Untersuchungen Cramers und bestätigte ebenfalls, daß es sich um Schwefel handle, da er außerdem sah, daß die Körnchen sich in großen gelben Tropfen lösen und dabei einen Geruch von schwefliger Säure entwickeln,

wenn Fäden von Beggiatoa auf einem Objektträger erhitzt werden. Lothar Meyer, Warming, Plauschied, Etard und Olivier, Duclaux, Olivier, Hoppe-Seyler, Sergius Winogradsky, mit einem Worte alle Autoren. die nach Cohn sich mit der Beggiatoa beschäftigt haben, erkannten an, daß es sich um Schwefel handle, und abgesehen von einigen einfachen zufälligen Versuchen, wie bei Etard und Olivier, welche sahen, daß die Körnchen sich auch in Aether und Chloroform lösten, beschäftigten alle sich vorzugsweise damit, das Entstehen, die Funktion und die letzte Entwickelung dieser Granulationen zu bestimmen; dabei gelang es ihnen nur, eine Menge von verschiedenen Theorien aufzustellen, mit denen uns zu beschäftigen hier nicht der richtige Zeitpunkt wäre.

Nur Gasperini gelangte in den letzten Jahren, in denen er das Studium der Beggiatoaceen mit Verständnis und von umfassenderen Gesichtspunkten aus wieder aufnahm, nach vielen Versuchen zu der Beobachtung, daß diese Körnchen „sich viel schneller in Essigsäure und Aether lösen als in Schwefelkohlenstoff und anderen Lösungsmitteln des Schwefels“. Deshalb gelangte er, indem er sich namentlich auf die schnelle Löslichkeit der Körnchen in Essigsäure stützte, einer Säure, von der wir natürlich wissen, daß sie kein Lösungsmittel des Schwefels ist, zu folgender Schlußfolgerung: „aber dessenungeachtet führte ich die Untersuchungen mit der Beharrlichkeit desjenigen durch, welcher nach einem Körper forscht, dessen Vorhandensein er voraussetzt, und ich mußte die rein schwefeligen Granulationen aus dem Inneren der Trichome ausschließen“.

* * *

Da nun die Forschung bis zu diesem Punkte gelangt ist, wollte ich vor allem das Studium dieser Granulationen wieder aufnehmen, da dies sicher eine große Bedeutung dafür haben muß, uns die biochemischen Erscheinungen zu erklären, deren diese besonderen Organismen fähig sind. Die Leichtigkeit, mit der ich mir fortwährend frisches Material verschaffen konnte, gerade aus dem Wasser, in welchem die Beggiatoa üppig wächst, gestattete mir gleichfalls, an Granulationen sehr reiche Fäden zu meiner Verfügung zu haben. Denn auch ich war, wie Winogradsky, zu dem Ergebnis gekommen, daß man nur unter guten Entwickelungsbedingungen eine reiche Anzahl von Körnchen in den Fäden wahrnehmen kann.

Die Arten, an denen ich vorzugsweise Beobachtungen angestellt habe, sind diejenigen, welche sich am gewöhnlichsten in den Schwefelquellen von Porretta finden, nämlich die Beggiatoa alba (Trevisan) und die Thiothrix nivea (Winogradsky), wobei ich die Einteilung der Familie „Beggiatoaceae“ in zwei Gattungen — Beggiatoa und Thiothrix — gelten lasse nach dem, was Winogradsky festgesetzt hat und Migula berichtet in seiner Abhandlung „System der Bakterien“. Dabei bemerke ich jedoch, daß ich nicht mit Winogradsky übereinstimmen kann hinsichtlich aller Merkmale, die er aufstellt, um die erwähnten beiden Arten voneinander zu unterscheiden; auch weiß ich nicht, ob diese Einteilung weiterhin als solche bestehen bleiben kann; weitere Untersuchungen und zum Teil die wenigen von mir noch nicht vollständig durchgeführten werden im stande sein, diese Frage in neuer Beleuchtung erscheinen zu lassen.

Die mikrochemischen Untersuchungen habe ich stets zu wiederholten Malen unter dem Mikroskop ausgeführt, um die geringsten Einzelheiten der Tatsachen zu konstatieren, die sich jedesmal zeigen würden. Dabei versäumte ich jedoch nicht, so viel als möglich die Experimente auch an reichlicherem Material in Glaskapseln zu wiederholen und dann die betreffende mikroskopische Untersuchung vorzunehmen.

* * *

Zunächst schickte ich mich natürlich an, die Versuche zu wiederholen, über welche die Autoren berichteten, die solche Untersuchungen vor mir angestellt hatten, und bald mußte ich mich, wie Gasperini, davon überzeugen, daß das beste Agens, um schnell das vollständige Verschwinden der Körner aus den Fäden der Beggiatoa zu erreichen, ohne Zweifel die Essigsäure ist.

Dasselbe Resultat erreichte ich jedoch nicht wie Gasperini vermittels des Aethers; obgleich letzterer ein gutes Lösungsmittel ist, zeigte er sich mir als dem Schwefelkohlenstoff etwas nachstehend, der, wenn man die Vorsicht anwendet, das Präparat zuerst etwas austrocknen zu lassen, in der Tat, wie Cramer sagt, ein sehr schnell wirkendes Lösungsmittel für die hier besprochenen Granulationen ist.

Ganz die gleichen Resultate, wie die schon von den früheren Autoren erzielten, erhielt ich bei Anwendung von Chloroform und absolutem Alkohol. Alsdann erhitzte ich Fäden von Beggiatoa auf einem Objektträger und konstatierte die Bildung von großen gelben Tropfen, sowie den Geruch von schwefliger Säure, den schon Cohn konstatiert hatte.

Außerdem fand ich, daß auch das Benzen und das Xylol gute Lösungsmittel für diese Granulationen sind, sowie daß bei Behandlung eines Präparates von Beggiatoa mit Kalihydrat in der Wärme das Präparat stark gelb gefärbt wird unter Auflösung der gewöhnlichen Körnchen. Schwefelsäure und Salzsäure lassen sie in der Kälte unverändert. Bringt man dagegen die Schwefelsäure zum Sieden, so nimmt das zerteilte Präparat dieselbe dunkelviolette Farbe an und zeigt dieselbe Bildung von öligen Tropfen, wie wenn man Schwefel mit Schwefelsäure kocht. Die Salpetersäure schien anfangs in der Kälte keine Wirkung auf die Körnchen auszuüben; in der Wärme zersetzte sie die ganze Masse der Fäden so schnell, daß sich nicht beobachten ließ, ob sie eine besondere Wirkung auf die Granulationen ausübte.

* * *

Während also die Gesamtheit dieser Reaktionen denjenigen recht zu geben schien, welche behaupteten, die Körnchen der Beggiatoa beständen aus Schwefel, erweckte doch die Tatsache, daß die Essigsäure das Agens war, welches am schnellsten und vollständigsten diese Körnchen zum Verschwinden brachte, bei mir, wie auch früher bei Gasperini, einen starken Zweifel daran, daß es sich wirklich um Schwefel handle, und ich machte mich sofort daran, zu untersuchen, was für eine Substanz es denn sein könne, die, obwohl sie auf die stärksten Säuren nicht reagierte, in Verbindung mit Essigsäure eine so mächtige und schnelle Reaktion entwickelte.

Mannigfaltig waren meine Vermutungen und viele Versuche stellte ich an; als ich aber nach einiger Zeit die Reaktionen mit Essigsäure

nochmals wiederholte, fiel mir, nachdem ich einmal meine Beobachtungen längere Zeit hindurch fortgesetzt hatte, die Tatsache auf, daß sich ganz feine Kristalle bildeten, die allmählich so zahlreich wurden, daß sie in einen großen Teil des ganzen Präparates eindrangen. Ich wiederholte das Experiment mit ganz genau demselben Resultat und ganz genau dasselbe Resultat konnte ich nachher jedesmal bei allen folgenden Präparaten konstatieren. Kam nämlich die Essigsäure in Berührung mit einem Präparat der Beggiatoa, so veranlaßte sie zuerst das Verschwinden der Körnchen, hierauf die Bildung zahlreicher kleiner Kristalle. Dies vollzog sich um so schneller und besser, je weniger Wasser im Präparat enthalten war, und dann auf noch bessere Weise, wenn ich die Fäden selbst an der Luft auf einem glasartigen Objektträger eine Zeitlang austrocknen ließ.

Die Ursache dieser Erscheinung ließ sich nicht zurückführen auf die Einwirkung der Essigsäure auf die mineralischen Substanzen, die im Wasser enthalten waren, in welchem sich die Beggiatoa befand, denn nachdem die Essigsäure mit einem Tropfen oder mit dem Rückstand nach der Verdunstung des Wassers selbst in Kontakt gebracht worden war, zeigte sich keine Bildung solcher Kristalle mehr. Dieselben konnten vielmehr in um so größerer Anzahl und um so schneller beobachtet werden, je geringer die Wassermenge gewesen war, die man sich bemüht hatte, mit den Fäden auf den Objektträger zu bringen. Da sich andererseits eine solche Einwirkung der Essigsäure auf die Zellensubstanz nicht voraussetzen ließ, so ergab sich daraus die Folgerung, daß die kleinen Kristalle von den Granulationen herstammen mußten, die gerade kurz vor der Bildung der ersteren verschwanden. In dieser Ueberzeugung wurde ich noch bestärkt durch die Beobachtung, daß derartige isolierte, aber nahe beieinander oder in Gruppen befindliche kleine Kristalle konstant in Verbindung mit den Fäden der Beggiatoa standen, ja sogar fast immer oberhalb der letzteren sich niedergeschlagen hatten. Außerdem stand die Menge der Kristalle, die sich gebildet hatten, im Verhältnis zur Menge der Fäden, mit denen das Präparat hergestellt wurde, sowie zu der Zahl der in größerer oder geringerer Menge in den letzteren vorhandenen Granulationen. Den letzten Beweis aber dafür, daß die Bildung dieser Kristalle in direktem Verhältnis zu den Körnchen stand, erhielt ich erst dann, als ich Haufen von Beggiatoa, die ich einige Tage im Laboratorium aufbewahrt hatte, verwandte und die Essigsäure einwirken lassen konnte auf Fäden, die arm an Granulationen waren oder gar keine besaßen, sowie auf abgefallene Körnchen. In der Tat zeigt sich, wie schon Winogradsky beobachtet hat, wenn man die Beggiatoa im Gefäß und im Wasser einige Tage lang stehen läßt, sogleich eine der ersten Erscheinungen, die ihrem Absterben vorausgeht, da nun langsam die Bedingungen schwinden, die sie zum Leben brauchen. Diese Erscheinung zeigt sich genau in dem fortschreitenden Heraustreten der Körnchen aus dem Faden; man sieht alsdann, wie diese Körnchen, die dennoch stets das gleiche ölige Aussehen und dieselbe Brechbarkeit der Lichtstrahlen beibehalten, sich in großer Anzahl um die Fäden umher bewegen, die dadurch mehr oder weniger vollständig hyalin geworden sind. Nun konnte ich in diesem Falle nicht nur die Beobachtung machen, daß die Kristalle sich überall in dem ganzen Präparate an den Stellen gebildet hatten, wo gerade die Körnchen vorher frei umherschwimmend

zu sehen waren (statt, wie immer, oberhalb der Fäden), sondern ich konstatierte auch, daß sich keine Kristalle entsprechend den Cylindern ohne Granulationen gebildet hatten; ich konnte sogar die Anhäufung und das Schmelzen der einzelnen Körnchen bis fast zur Bildung der Kristalle, sowie auch die vereinzelte Verwandlung einiger Körnchen in einen winzig kleinen Kristall beobachten.

* * *

Ueber die Abstammung dieser Kristallformen aus den Körnchen konnte also nunmehr kein Zweifel mehr obwalten, und das einzige noch zu lösende Problem bestand darin, die Natur dieser Kristalle zu entdecken, um dann später weiter vorzudringen bis zu der Substanz, die durch Einwirkung der Essigsäure ihre Entstehung hatte bewirken können.

Inzwischen halte ich es für angezeigt, hier anzugeben, daß man, um ein gutes Präparat von solchen Kristallen zu erhalten und ihre Bildung besser zu untersuchen, auf folgende Weise verfahren muß. Man nimmt eine so kleine Menge von Beggiatoa: als möglich, breitet die Fäden derselben so weit als möglich auf dem Objektträger aus, wobei man zwei gut gereinigte Nadeln benutzt, und läßt sie fast vollständig an der Luft und gegen den Staub der Atmosphäre geschützt austrocknen. Nachdem man alsdann das Deckglas darauf gelegt hat, bringt man das Präparat unter das Feld des Mikroskops und wählt hierauf die Stelle aus, an der die Fäden mit ihren Granulationen am deutlichsten hervortreten. Dann bringt man nur einen oder zwei Tropfen Essigsäure auf die Grenze zwischen Objektträger und Deckglas. Die Einwirkung der Essigsäure beginnt fast augenblicklich und nach 2 oder 3 Minuten ist die Kristallbildung eine vollständige. Auf diese Weise bemerkt man, wie oben an den Fäden, die jetzt vollständig hyalin zurückgezogen und einander genähert sind, diese Kristallformen von gelber und schwärzlicher Farbe, je nach ihrer Masse oder dem Einfallen des Lichtes, hervortreten. Wenn man das Präparat so herrichtet, daß man die Essigsäure etwas früher auf die Fäden bringt, ehe man das Deckglas auflegt, so erhält man die Kristalle auf dieselbe Weise, aber das Präparat wird weniger deutlich wegen der Unregelmäßigkeiten, welchen die Bildung der Kristalle ausgesetzt ist infolge der großen Verschiebungen, welche die Essigsäure an den Fäden hervorbringt, während sie bewirkt, daß sie sich zurückziehen.

Diese Kristalle sind von verschiedener Größe und dem Anschein nach von verschiedener Gestalt, aber, ich wiederhole es, nur dem Anschein nach, denn während einige verlängert oder spindelförmig aussehen und mehr oder weniger seltsame Formen haben, kann man dagegen alle auf die ursprüngliche Rhomboidform zurückführen, denn sie sind nur Gruppierungen und mehr oder weniger regelmäßige Formen von Rhomboiden; das charakteristische Beispiel davon zeigt der größte Teil der Kristalle selbst, die man leicht als Rhombooktaëder des orthorhombischen Systems erkennt.

In der Kälte mit stärkeren Säuren der Prüfung unterzogen, lösen sie sich nicht, wie sie sich auch nicht in Alkaliverbindungen lösen, selbst nicht in sehr konzentrierten Lösungen derselben. Mit Schwefelsäure in der Wärme behandelt, teilen sie dem Präparat eine braunviolette Färbung mit, unter Bildung von kleinen öligen Tropfen. In der Wärme lösen sie sich auch sehr schnell in einer etwas starken Lösung von Kalihydrat, indem sie das Präparat schön gelb färben. — Die Lösungsmittel in der Kälte sind der Schwefelkohlenstoff, der absolute Alkohol, das Chloroform, dann das Xylol, das Benzin und der Aether. Im trockenen Zustande erhitzt, schmelzen sie, so daß sie große ölige Tropfen bilden und einen starken Geruch nach schwefeliger Säure ausströmen.

Ihren Schmelzpunkt habe ich im Trockenschrank festgesetzt; er schwankt ungefähr zwischen 113,5° und 114,5°. Läßt man die durch das Schmelzen gebildeten Tropfen erkalten, so kristallisieren diese nach einiger Zeit im monoklinischen System, das wiederum nach einiger Zeit in das rhombische übergeht.

Indem ich es unterlasse, über die vielen nutzlosen Versuche zu berichten, die ich namentlich im Anfang anstellte, je nach den verschiedenen Ideen, die in mir bezüglich der Beschaffenheit der in Rede stehenden Kristalle entstanden, kann ich jetzt, wie es mir scheint, sicher und zweifellos die Schlußfolgerung aufstellen, daß die Kristallisationsform, der Schmelzpunkt und die Art des Verhaltens verschiedenen Reagentien gegenüber hinlängliche Gründe sind, um diese Kristalle für Schwefelkristalle zu halten.

Und daß sie wirklich von dieser Natur sind, davon konnte ich mir noch den letzten Beweis auf folgende Weise verschaffen: Ich löste sogenannte „Schwefelblüten" auf in Schwefelkohlenstoff, Alkohol, Chloroform etc., dann breitete ich auf einem Deckglas einen Tropfen der Flüssigkeit sorgfältig aus, welche die Schwefelteilchen so aufgelöst enthielt; nach Verdunstung der Flüssigkeit selbst erschienen diese unter dem Mikroskop in Gestalt von sehr zierlichen kleinen Rhombooktaëderkristallen. Andererseits bemerkt man in einem mikroskopischen Präparate, wenn man eines dieser Lösungsmittel auf die vermittels der Essigsäure aus den Körnchen der Beggiatoa gebildeten Kristalle einwirken läßt, daß gegen die zwischen dem Deckglas und dem Objektträger befindliche Grenze hin, namentlich auf der Seite, die derjenigen gegenüber liegt, auf welcher nach der bei mikroskopischen Untersuchungen gebräuchlichen Methode in einzelnen Tropfen die Flüssigkeit aufgetragen wird, die als Lösungsmittel dienen soll, nach Verdunstung dieser letzteren die Bildung eines feinen Niederschlags erfolgt. Dieser Niederschlag, der mehr oder weniger reichlich ist, je nachdem das Lösungsmittel mehr oder weniger lange Zeit eingewirkt hat, zeigt sich von orangegelber Farbe, wenn man Schwefelkohlenstoff verwendet hat, hellgelblich, wenn man sich des Chloroforms und der anderen oben erwähnten Lösungsmittel bedient hat. Untersucht man nun nach vollständiger Verdunstung der Flüssigkeit diesen Niederschlag unter dem Mikroskop, so sieht man, daß er aus kleinen Kristallen besteht, die ganz genau dieselben sind, wie die ursprünglichen und die, wie oben schon bemerkt, aus den Schwefelblüten erhaltenen.

Ueberdies habe ich in der Tafel am Schlusse dieser Abhandlung die Photographieen der Kristalle gebracht, die ich erhielt, indem ich Chloroform einwirken ließ (letzteres ist dasjenige Mittel, welches am besten und schnellsten verdunstet und das Präparat am reinlichsten hervortreten läßt), sei es nun, daß es sich um Schwefelblüten (Fig. 4) handelt oder um die vermittels der Essigsäure aus den Körnchen der Beggiatoa (Fig. 5) gewonnenen Kristalle. Aus diesen Photographien ergibt sich deutlich die Gleichförmigkeit der Kristallformen sowohl bei den Fig. 4 und 5 als auch bei Fig. 3, in welcher die Kristalle dargestellt sind, die ich direkt aus den Granulationen der Beggiatoa durch Behandlung mit Essigsäure erhielt. In allen drei Fällen handelt es sich also um Schwefel.

Danach könnte man annehmen, daß die Granulationen durch eine

Schwefelverbindung gebildet würden, und daß durch die Einwirkung der Essigsäure auf dieselbe der Schwefel frei würde und sich hierauf kristallisierte. In diesem Falle würde es nötig sein, zu untersuchen, um welche Schwefelverbindung es sich handeln kann, die stärkeren Säuren und überhaupt den Alkaliverbindungen Widerstand leistet, sich dagegen durch Essigsäure zerlegen läst. Deshalb wollen wir, ehe wir weiter gehen, unsere Aufmerksamkeit auf zwei wichtige Tatsachen richten, nämlich auf die folgenden:

1) Die in den Fäden der Beggiatoa enthaltenen Granulationen zeigen, daß sie aus Schwefel bestehen, nicht nur durch alle physikalischen und chemischen Reaktionen, mit Ausnahme der Reaktion auf Essigsäure, sondern man kann auch durch Behandlung derselben mit einem Lösungsmittel des Schwefels aus ihnen nach Verdunstung des flüssigen Lösungsmittels einen Niederschlag von kleinen Schwefelkristallen erhalten. Das läßt sich leicht konstatieren, wenn man genau auf dieselbe Weise verfährt, wie sie schon bei Besprechung der Kristalle beschrieben wurde, die man durch Einwirkung der Essigsäure aus den Granulationen selbst erhalten hatte. Außerdem bemerkt man bei Erhitzung eines Präparates von Beggiatoa neben einem Geruch nach schwefliger Säure eine gelbe Färbung des ganzen Präparates; diese Färbung wird bald eine milchig weiße durch Abkühlung infolge einer Menge von kleinen öligen Tropfen, die sich durch das Schmelzen der ursprünglichen Körnchen gebildet haben. Läßt man das Präparat sich noch weiter abkühlen, so beginnen die kleinen Tropfen nach einiger Zeit zu kristallisieren, bis sie das Aussehen annehmen, das infolge der gleichen Behandlung die vermittelst der Essigsäure aus der Beggiatoa erhaltenen Schwefelkristalle darbieten.

2) Kristalle, ähnlich denjenigen, welche sich infolge von Einwirkung der Essigsäure bilden, kann man auch auf andere Weise erhalten. In der Tat, läßt man in einem Präparate das ganze Wasser verdunsten, bis die Fäden ausgetrocknet sind, so sammeln sich die Körnchen, nachdem sie von den Fäden frei geworden sind, in Gruppen und zerfließen zu Haufen, unter denen man nicht selten solche Kristalle antrifft. Auch infolge einer beliebigen anderen Ursache, die das Absterben der Beggiatoa veranlaßt, findet man nicht selten nach dem Heraustreten der Körnchen aus den Fäden freie Schwefelkristalle. Diese zeigen sich z. B., nachdem die Fäden einige Tage im Laboratorium aufbewahrt worden sind, oder noch besser, nachdem man das Mineralwasser, in dem sie gewöhnlich leben, durch destilliertes Wasser ersetzt hat. Winogradsky berichtet, er habe nach einigen Tagen des Verbleibens der Beggiatoa in destilliertem Wasser „sehr große und wohlgebildete Kristalle" beobachtet, die er auch für Schwefelkristalle hielt. — Aus den Granulationen erhielt ich Schwefelkristalle auch vermittelst anderer chemischer Agentien; so z. B. kann man sie durch Einwirkung von Salpetersäure in der Kälte nach einer gewissen Zeitdauer erhalten. In reichlicherer Menge kann man Kristalle erhalten durch Behandlung der Beggiatoa mit absolutem Alkohol, jedoch (und das ist wichtig zu bemerken) nur bei Beginn des Experimentes; denn später im zweiten Stadium werden die Kristalle selbst wieder aufgelöst durch Einwirkung desselben Alkohols. Genau die gleiche Erscheinung, wenn auch in geringerem Grade, erhält man vermittelst des Xylols.

Mir scheint dies alles klar zu beweisen, daß die Bildung der

Schwefelkristalle aus den in der *Beggiatoa* enthaltenen Körnchen nicht nur nicht an eine exklusive Wirkung seitens der Essigsäure gebunden ist, da ja verschiedene Agentien sie veranlassen, sondern daß die Tatsache, zufolge welcher zur Veranlassung ihrer Bildung physikalische Agentien hinreichen (Austrocknen, Zerstörung der Zelle) eine solche ist, daß sie die Notwendigkeit einer direkten chemischen Einwirkung auf die Körnchen ausschließt. Es genügt daher, sich zu fragen, ob die Tätigkeit so verschiedener Agentien sich nicht vielmehr auf die Substanz richtet, aus welcher der Faden besteht, und ob es für die Körnchen nicht genügt, daß sie von letzterer frei werden, damit sie Gelegenheit finden, Kristalle zu bilden. Wirklich tritt stets eine mehr oder weniger reichliche und schnelle Bildung von Kristallen ein, wenn der Faden zufällig auf irgend eine Weise eine Aenderung in ihrer Zusammensetzung erleidet, weil nämlich alsdann die Körnchen heraustreten und Kristallform annehmen können.

Deshalb muß auch die Einwirkung der Essigsäure darin bestehen, daß sie die Fäden der *Beggiatoa* derart verändert, daß sie die Granulationen frei geben, die dann kristallisieren, sobald sie ausgetreten sind. Und um nun zu der schon dargelegten Tatsache zurückzukehren, so sprechen alle bei diesen Körnchen versuchten Reaktionen ohne Ausnahme, einschließlich der wahrhaft entscheidenden der Verwandlung in Kristalle nach dem Schmelzen oder Verdunsten eines flüssigen Lösungsmittels, das auf sie eingewirkt hat, für ihre rein schweflige Natur. Letztere wird auch dadurch bestätigt, daß es gelungen ist, die direkte Verwandlung freier Körnchen in Schwefelkristalle zu beobachten. Der einzige Zweifel über ihre wahre Natur war durch den Umstand veranlaßt, daß sie sich schnell auflösten unter dem Einfluß der Essigsäure, die mit Unrecht für ein Lösungsmittel der Granulationen selbst gehalten wurde. Es scheint mir daher, daß man, nachdem diese Tätigkeit der Essigsäure anders erklärt worden ist, ohne weiteres daraus schließen kann, *daß die in diesen Fäden der Beggiatoa enthaltenen Granulationen wirklich aus reinem Schwefel bestehen.*

* * *

Für die Essigsäure bleibt jedoch die Tatsache bestehen, daß sie viel, viel schneller und vollständiger als alle anderen Agentien die Umwandlung der Schwefelgranulationen in Schwefelkristalle bewirkt. Deshalb bleibt uns noch übrig, zu untersuchen, auf welche Weise sie der Faden so verändern kann, daß dadurch die plötzliche Entfernung der Körnchen veranlaßt wird, sowie auch den Mechanismus kennen zu lernen, durch welchen diese Entfernung vor sich geht, und den Grund, weshalb die Körnchen plötzlich, und zwar alle, kristallisieren.

Um diese Fragen zu beantworten, muß man zwei Koeffizienten kennen, und zwar:

1) in welchem physikalischen Zustand sich der Schwefel in den Granulationen befindet;

2) welches die anatomische Lage der letzteren in Hinsicht auf die Fäden ist.

Die Granulationen bestehen entweder aus festem (kristallinischem oder amorphem) oder aus flüssigem Schwefel.

Cramer und *Meyer-Ahrens* sagen: „Ihre augenscheinliche und

große Fähigkeit der Refraktion verleitet zu dem Gedanken an eine feste Ausscheidung“. Cohn schreibt: „Ob es Kristalle sind oder nicht, könnte ich nicht mit Sicherheit sagen wegen ihrer Kleinheit und ihres starken Refraktionsvermögens; da sie sich aber gegen das polarisierte Licht doppelbrechend zeigen, so darf man deshalb nicht an ihrer Kristallnatur zweifeln.“ Es ergibt sich nun deutlich aus dem ganzen Kontext der Abhandlung, daß dieser Autor nicht einmal die Hypothese vorbringt, es könne sich um nicht festen Schwefel handeln; er bemüht sich nur, zu untersuchen, ob es sich um amorphen oder kristallinischen Schwefel handelt. — Winogradsky dagegen nimmt aus verschiedenen Gründen an, daß es sich um öligen oder halbflüssigen Schwefel handeln müsse, und um ölförmige Körnchen, wie sich Gasperini ausdrückt; da er aber nicht glaubt, daß es sich um reinen Schwefel handelt und nicht weiß, worum es sich sonst handeln kann, so spricht er sich nicht weiter darüber aus, läßt aber durch das Wort „ölförmig“ auf die Annahme einer eher flüssigen als festen Substanz schließen.

Ich dagegen erkläre sogleich, daß meine Beobachtungen mich dazu führen, mit Winogradsky anzunehmen, daß es sich wirklich um Schwefel im flüssigen, öligen Zustand handeln muß.

Klar scheint es mir zu sein, daß es sich nicht um Kristalle handelt. Es genügt, unter dem Mikroskop diese Granulationen zu beobachten, um mit Gasperini wiederholen zu müssen: „Welches auch ihr Volumen sein mag, niemals nehmen sie ein kristallinisches Aussehen an“. Und andererseits würde sich ihre Verwandlung in Kristalle nicht vollziehen, wenn sie schon solche wären; dagegen konnten wir schon die Kristallisation isolierter und freier Körnchen beobachten, wenn die letzteren mit Essigsäure behandelt wurden. Endlich, wenn es sich um Kristalle handelte, so müßten diese sich als solche sogleich von den Fäden der Beggiatoa frei machen und es dürfte nicht nötig sein, daß eine gewisse mehr oder weniger lange Zeit, je nach dem Agens, das ihre Loslösung bewirkt, und der Umgebung, in welcher sie sich gerade befinden, vergeht von ihrem Heraustreten an bis zu ihrer vollständigen Umwandlung in Kristalle.

Es bleibt daher nur noch übrig, zu entscheiden, ob es sich um festen amorphen oder um flüssigen Schwefel handelt. Aber auch in dieser Hinsicht ist die Tatsache hervorzuheben, daß man, wenn man eine Flüssigkeit verwendet, die kein Lösungsmittel ist, die aber schnell das Heraustreten der Körnchen bewirkt, wie gerade die Essigsäure, keine deutliche Loslösung der Körnermasse sieht, wie dies bei einer festen Substanz der Fall sein würde, sondern man sieht, wie dieses rundliche, ölförmige Körperchen allmählich in seinem Durchmesser reduziert wird, bis es vollständig verschwindet, gerade wie ein Oelfleck, der allmählich immer kleiner wird bis zum vollständigen Verschwinden. Außerdem ist es leicht, zu sehen, wie in den an Schwefel sehr reichen Fäden diese Granulationen ineinander fließen bis zur Bildung großer Tropfen, wenn sie bis auf ca. 70° erhitzt werden. Dies hatte auch Winogradsky beobachtet, als er die Präparate im Marienbad einer solchen Temperatur aussetzte. Wir wissen aber, daß der Schmelzpunkt des Schwefels im festen Zustand ca. 114° beträgt, weshalb sich notwendigerweise daraus ergibt, daß er sich bei der Beggiatoa in einem anderen Zustand befinden muß, als im flüssigen. Uebrigens beobachtet man das Schmelzen solcher Granulationen in dichten Haufen in Gestalt von

Tropfen auch fast immer infolge von Retraktion der Fäden, wenn man das Präparat austrocknen läßt. Könnte das vielleicht eintreten, wenn es sich um festen Schwefel handelte?

Diese Hypothese, daß der Schwefel in den Fäden der Beggiatoa sich im sogenannten „weichen" oder „plastischen" Zustand in Form von öligen Tropfen befinde, eine Hypothese, die mir sehr begründet erscheint nach dem, was ich bis jetzt ausgeführt habe, würde auch ein Mittel an die Hand geben, eine Erklärung und gleichzeitig eine stärkere Begründung einer anderen Tatsache zu geben, nämlich der milchig weißen Färbung, die gerade die in schwefelhaltigem Wasser lebenden Beggiatoen zeigen. In der Tat verleiht der Schwefel in Gestalt ganz feiner Tropfen den transparenten Substanzen, auf denen er sich niedergeschlagen hat oder in denen er sich befindet, die milchig-weiße Färbung. Davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man eine ganz kleine Menge Schwefel zwischen einem Objektträger und einem Deckglas erhitzt; so lange der Schwefel fest ist, bleibt die Farbe gelb, wenn aber das Schmelzen beginnt und der Niederschlag von kleinen feinen Tropfen auf dem Glas eintritt, dann geht die Färbung ins Milchig-weiße über; diese Färbung zeigt sich um so intensiver, je größer die Anzahl der Tropfen ist, die sich gebildet haben. — Und wie könnte die milchig-weiße Färbung der Beggiatoa erklärt werden, wenn das nicht der Fall wäre? Der Faden an und für sich ist vollständig hyalin, durchscheinend, vollständig farblos und der Schwefel, wenn er im festen Zustande darin enthalten wäre, müßte ihn gelb färben, da ja nur dies die Farbe des festen Schwefels ist. Was anderes kann also die Ursache einer verschiedenen Färbung sein? Aber es sind unzweifelhafte experimentelle Versuche vorhanden, die positiv die Hypothese bestätigen, daß die milchweiße Farbe der Beggiatoa den in ihr enthaltenen Schwefeltropfen zuzuschreiben ist. Von dem günstigen Ergebnis dieser Versuche konnte man schon einen Begriff erhalten, wenn man beobachtete, daß man bei Behandlung eines Präparates von Beggiatoa mit Essigsäure zugleich mit dem Verschwinden der Granulationen auch das Verschwinden des ursprünglichen, charakteristischen, milchweißen Aussehens solcher Präparate erlangt. In der Tat, nimmt man ein kleines Büschel einer Beggiatoa von recht milchweißer Farbe und bringt es in ein Röhrchen, das Essigsäure enthält, so wird man sehen, wie dieses milchig weiße Aussehen allmählich verschwindet, bis die ganze Masse vollkommen hyalin wird; man muß jedoch dafür Sorge tragen, daß man die Röhrchen tüchtig schüttelt, so daß die Essigsäure mit den einzelnen Fäden gut in Berührung kommen kann. Diese Tatsache läßt sich gerade mit dem Heraustreten und Kristallisieren der Körnchen erklären, welche Erscheinungen durch die Essigsäure hervorgerufen werden. Dasselbe findet statt und, wie man begreift, vielleicht noch auf deutlichere Weise, wenn man absoluten Alkohol verwendet, der den Schwefel der Granulationen auflöst. So wirken auch in höherem oder geringerem Grade alle anderen Lösungsmittel; schlechter ausgeprägt jedoch beobachtet man die Erscheinung, wenn man Mittel verwendet, die zu schnell verdunsten (Chloroform, Aether etc.) oder Schwefelkohlenstoff, der, weil er ölig ist, schlecht mit dem Faden der Beggiatoa in Berührung tritt und sich deshalb gar nicht für dieses Experiment und für andere eignet. Außerdem kann man leicht beobachten, wie die eine Zeit lang im Laboratorium sich selbst überlassenen Büschel der Beggiatoa in ihrer milchigen Farbe abnehmen. Wenn

diese Abnahme auch nicht so weit geht, daß sie ihnen ein hyalines Aussehen verleiht, wie man es mit Essigsäure und Alkohol erreicht, so macht sie sich doch deutlich bemerkbar; noch viel deutlicher tritt sie hervor, wenn man die Beggiatoen mehrmals mit destilliertem Wasser abwäscht. Auch diese Tatsache erklärt sich aus der Trennung der Körnchen von den Fäden; ich hatte weiter oben öfters Gelegenheit, auf diese Trennung hinzuweisen. Schließlich will ich noch hinzufügen, daß, wenn man ein mikroskopisches Präparat mit an Schwefel reichen Cylindern der Beggiatoa herrichtet und es dann zerquetscht, indem man mit einigen hin- und hergehenden Bewegungen das Deckglas über dem Objektträger zusammendrückt, man bemerkt, daß die zuerst auf die Masse der Fäden allein beschränkte Farbe sich nunmehr über das ganze Präparat ausgedehnt hat. Betrachtet man dies unter dem Mikroskop, so sieht man deutlich, daß diese Tatsache den äußerst zahlreichen Granulationen zuzuschreiben ist, die durch den Bruch und die Auflösung der Fäden freigemacht, das ganze Präparat überzogen haben. Hier und da zerstreut befinden sich die Reste der Fäden, die mehr oder weniger vollständig hyalin geworden sind und keine Körnchen mehr haben.

Auf Grund aller dieser Umstände glaube ich daher die Schlußfolgerungen ziehen zu können, daß die in den Fäden der Beggiatoa enthaltenen Granulationen nicht nur aus Schwefel bestehen, sondern aus Schwefel im weichen, öligen Zustande. Deshalb möchte ich es vorziehen, sie **„Schwefeltropfen"** zu nennen, um sogleich durch die Benennung selbst ihre Natur klar zu bezeichnen.

* * *

Bis jetzt habe ich nie auf die anatomische Lage hingewiesen, welche diese kleinen Schwefeltropfen hinsichtlich der Fäden der Beggiatoa einnehmen; dies tat ich, um nicht eine wichtige Frage zu berühren, welche ich jetzt noch mit einigen Worten besprechen muß.

Die Autoren haben bis jetzt alle angenommen, daß diese Tropfen im Innern der Fäden enthalten, im Zellplasma eingeschlossen und in verschiedener Weise zerstreut seien. Nur Gasperini, der namentlich wahrgenommen hatte, daß bisweilen die sogenannten Körnchen über die Linie der Fäden hinausragten, glaubte, sie könnten vielleicht an der äußeren Wand kleben. Ich dagegen will mich darauf beschränken, objektive Tatsachen zu berichten, die von mir mehrmals konstatiert worden sind, und die ein wenig Licht in diese Frage bringen.

Es hält wohl nicht schwer, wenn man in das Mikroskop hineinsieht und frische Fäden der Beggiatoa betrachtet, sich davon zu überzeugen, daß diese Schwefeltröpfchen sich nicht in einer Ebene befinden, sondern in verschiedenen Ebenen, von denen namentlich zwei deutlicher hervortreten, nämlich eine obere und eine untere. In der Tat, wenn man die in der oberen Ebene erscheinenden Tropfen in den Fokus bringt, so zeigen sie sich relativ dick, in richtigen Umrissen und stark lichtbrechend, wohingegen die in der unteren Ebene befindlichen wie schwarze, ziemlich kleine Punkte aussehen, die das Licht gar nicht oder schwach brechen. Bringt man dagegen die Tropfen der unteren Ebene in den Fokus, so erscheinen diejenigen der oberen Ebene sehr dick, in ihrem Umriß abschattiert und immer mehr oder weniger lichtbrechend, während die unteren, wenn auch nicht so deutlich, die Merkmale annehmen, welche vorher die oberen besaßen. Ferner finden sich, wie schon Gasperini

beobachtet hatte, nicht selten Tropfen, die so dick sind, daß sie über den Umriß der Fäden hinauszugehen scheinen, deren seitlichen Rand sie verdecken.

Diese Tatsachen konnte ich mir später erklären, als es mir gelang, einige Stücke von Fasern zu beobachten, die um sich selbst rotierten beim Durchgange durch flüssige Strömungen, die ich auf dem Gesichtsfelde des Mikroskops hervorgerufen hatte. Alsdann konnte ich sehen, daß, während der zentrale Teil der Cylinderfaser hell, hyalin und so transparent erscheint, daß man deutlich feine Teilchen (z. B. Bakterien, kleine Stücke von Fäden etc.) wahrnehmen kann, sich dagegen an der Peripherie rings herum vereinigt die Schwefeltröpfchen befinden. Der Eindruck, den man von ihnen erhält, ist genau der einer feinen Glasröhre, um die herum schwärzliche Punkte gezeichnet worden sind und die man gegen das Licht gewendet betrachtet, während die Hand ihr eine Rotationsbewegung um die eigene Achse mitteilt. Diese Tatsache läßt sich noch besser beobachten, wenn man Cylinder vor sich hat, die nicht zu sehr von Tropfen gefüllt sind, weil sie sonst fast völlig schwarz erscheinen und es nur schwer möglich ist, sie in transparentem Zustande zu erblicken. Der Umstand also, daß die Tropfen nur an der Peripherie vereinigt sind, erklärt die Tatsache, daß es dem Auge des Beobachters so erscheint, als seien sie in zwei verschiedenen Hauptebenen gelagert. Die erste Ebene wird dargestellt durch die Tropfen, welche auf jenem Längsschnitt des Cylinders liegen, der gegen das Okular des Mikroskops gerichtet ist; die zweite Ebene wird, da es sich um einen fast vollkommen transparenten Cylinder handelt, dargestellt durch die Tropfen, welche auf dem unteren gegen den Boden hin gerichteten Längsschnitt liegen und sich, wie wir gesehen haben, dem Beobachter weniger deutlich zeigen.

Die peripherische Lagerung der Tropfen kann auch ihr scheinbares Ueberschreiten der Grenzen der Linien der Fäden selbst erklären; dies ist namentlich der Fall, wenn sich dem Beobachter dicke Tropfen längs der Randlinie des Cylinders zeigen und Anschwellungen nach Art kleiner Knötchen bilden.

Wenn es auch auf den ersten Blick sonderbar erscheinen mag, daß diese Tropfen sich in der Richtung der Peripherie des Cylinders statt im Innern befinden, im Plasma, wie man glaubte, so scheint dies dennoch immer beachtenswerter, wenn man an die Untersuchungen denkt, die in letzter Zeit namentlich von seiten Gasperinis über die Familie der Beggiatoaceen angestellt worden sind. Bekanntlich nimmt Gasperini an, daß die Familie der Beggiatoen sich nicht nur auf die in schwefelhaltigem Wasser lebenden Formen von Organismen beschränken dürfe, sondern auch andere Gattungen umfassen müsse, die in verschiedenen Gewässern wachsen und auch verschiedene Eigenschaften besitzen. Nun finden sich aber unter diesen letzteren auch solche, welche die Eigenschaft haben, Eisen zu binden, wie z. B. die Crenothrix Kühniana oder Beggiatoa Kühniana (Gasperini), die mit einem Ueberzug von Eisen bedeckt ist, der bisweilen sogar so weit ausgebildet ist, daß er aus dem Faden „ein glasartiges, organoides Röhrchen macht, in dem jedes fundamentale Merkmal der wahren und eigentlichen organisierten und mit Lebensfähigkeit ausgestatteten Körper zum Verschwinden gebracht ist“ (Gasperini). Hier wird also die Eisensubstanz an der Peripherie des Fadens, in der Membran, nieder-

geschlagen; deshalb kann es nicht auffallend erscheinen, wenn dasselbe bei ähnlichen Gattungen hinsichtlich des Schwefels geschieht.

Wir haben gesehen, daß diese Schwefeltropfen sich an der Peripherie des Fadens befinden; aber sie liegen zwischen der Membran und dem Protoplasma in einer Verdoppelung der Membran selbst oder außerhalb der Membran? Zur Beantwortung dieser Frage könnte uns zum Teil die Untersuchung der oben erwähnten, Eisen enthaltenden Arten von Beggiatoa von Nutzen sein; aber leider wissen wir auch von diesen nicht, ob der Vorgang des Niederschlages der Eisensubstanz von außen nach innen beginnt oder umgekehrt. Was ich indessen darüber sagen kann, ist folgendes: 1) Niemals, auch dann nicht, wenn ich mich färbender Substanzen bediente, gelang es mir, eine Andeutung von Vakuolen in Fäden ohne Tropfen zu finden oder nach Entfernung der letzteren infolge von Abwaschungen in destilliertem Wasser, Zusammenpressen des Präparates etc. 2) Zerquetscht man die Fadenmasse der Beggiatoa, indem man auf den Objektträger das Deckglas niederdrückt, so erreicht man zum großen Teil die Entfernung der Tropfen aus den Cylindern, aber man kann auch viele kleine Stücke von Fäden und auch wahre Fragmente der letzteren beobachten, die, obschon abgerissen und zerbrochen, noch voll Schwefeltröpfchen geblieben sind. Diese Tatsache muß uns wohl anzeigen, daß der Tropfen in der Röhre nicht frei ist, da er ja sonst heraustreten würde, sobald das Zerbrechen der Röhre stattgefunden hat. Er ist also entweder stark klebend an der Substanz der letzteren oder er befindet sich in einer Art von Zelle eingeschlossen. Daß es sich um Adhäsion an der äußeren Schicht der Membran handelt, scheint mir schwer annehmbar, da man nicht recht verstehen würde, wie ein ganz kleiner, sphärischer Körper, wenn er auch noch so klebrig ist, bei einem so geringfügigen Berührungspunkte so starke Adhäsion zeigen könnte, daß er Strömungen verschiedener Flüssigkeiten sehr gut widerstände, sowie Stößen und Zerreibungen, die zwischen den Fäden entweder auf natürliche Weise oder infolge von Manipulationen vorkommen. Wenn man dies aber auch zugibt, so ist es sicher, daß, wenn eine Loslösung einträte, diese sich schnell und vollständig vollziehen müßte, statt ganz langsam von der Peripherie des Tropfens aus nach dem Mittelpunkte, wie es z. B. durch Einwirkung der Essigsäure geschieht. Andererseits spricht auch der Umstand, daß nie eine Andeutung von Vakuolen angetroffen wurde, gegen die Hypothese, daß diese Tropfen sich in Zellen sammeln, die durch eine Verdoppelung der Membran gebildet worden sind, was mir übrigens auch a priori kaum annehmbar erscheint.

Ich neige vielmehr zu der Ansicht, daß diese Schwefeltröpfchen ihren Platz finden in dem virtualen Raume, der zwischen Plasma und Membran existiert, und daß sie, da sie an letzterer adhärieren, dadurch gleichsam in eine kleine Höhlung eingeschlossen werden, aus der sie sich befreien entweder durch Ruptur oder Zerstörung der Membran selbst, oder durch Einwirkung spezieller Erscheinungen, die durch besondere Agentien hervorgerufen werden.

* * *

Nachdem wir also gesehen haben, daß es sich um ölige, unterhalb der Zellenmembran enthaltene Schwefeltropfen handelt, wollen wir nun zu erklären versuchen, durch welche Umstände es der Essigsäure ge-

lingt, 1) alle diese Tropfen schnell nach außen hin zu treiben, 2) zu bewirken, daß sie schnell kristallisieren.

Wenn wir ein Präparat von **Beggiatoa** auf die schon geschilderte Weise herrichten und es beobachten, wenn Essigsäure damit in Berührung gebracht wird, so sehen wir, daß die Fäden sich bald und sehr schnell zusammenziehen, so daß sie auf minimale Verhältnisse reduziert werden im Vergleich zu denen, die sie vorher hatten. Die zuerst unsichtbaren Septa intercellularia kommen auf diese Weise ganz deutlich zum Vorschein und der ganze Faden, der schon das Aussehen eines homogenen Cylinders hatte, nimmt jetzt das Aussehen eines feinen Kettchens an. Indessen nehmen die schwarzen, lichtbrechenden, aus den Schwefeltropfen bestehenden Punkte schnell ab, bis sie vollständig verschwinden und dieses Kettchen ganz hyalin erscheinen lassen. Verfolgt man das Verschwinden dieser Tropfen, so sieht man, daß sie nicht verschwinden, indem sie sich ausdehnen, verbreitern oder zuerst zusammenfließen, um dann sich in allmählich immer kleiner werdende ölige Massen zu verwandeln, wie es geschieht, wenn man es mit wahren Lösungsmitteln des Schwefels zu tun hat, z. B. mit Schwefelkohlenstoff, sondern man sieht, wie diese Tröpfchen sich sogleich in sich selbst zusammenziehen, kleiner und immer kleiner werden, bis sie vollständig verschwinden. Einige Sekunden nach dem Verschwinden der ersten Tropfen kann man schon oberhalb der Fäden einige kleine Schwefelkristalle sehen. So viele Beobachtungen ich auch angestellt habe, war es mir doch niemals möglich, infolge eines solchen Vorganges die geringste Zerreißung der Membran oder das Zerbrechen des Fadens zu beobachten, selbst dann nicht, wenn ich, um dies besser zu konstatieren, auf die Behandlung mit Essigsäure eine tüchtige Abwaschung der Fäden mit destilliertem Wasser folgen ließ und hierauf die Färbung der letzteren mit den gewöhnlichen Farben oder mit einer wässrigen Jodlösung vornahm.

Wie kann denn nun das Heraustreten der Schwefeltropfen vor sich gegangen sein? Das kann ich nicht mit Bestimmtheit sagen, aber ich bin der Ansicht, daß man die Tatsachen der Osmose nicht unbeachtet lassen darf, die ohne Zweifel und in starken Verhältnissen durch die Zellenwände hindurch stattfinden muß, wenn die durch Einwirkung der Essigsäure gerinnende Zelle eine beträchtliche Verminderung ihres Volumens erleidet. Und daß wichtige Erscheinungen der Osmose auftreten, mußte ich auch konstatieren, als ich die Verwendung von durch Essigsäure verdünnten, färbenden Substanzen versuchte, um gleichzeitig die Färbung der Zelle und das Heraustreten der schwefelhaltigen Tropfen zu erreichen. Es gelang mir wirklich nie, auf diese Weise zu bewirken, daß die färbenden Substanzen in das Innere des Fadens eindrangen, der stets vollständig farblos blieb. Es ist überflüssig, zu sagen, daß dieselben Farben, wenn sie in destilliertem Wasser aufgelöst waren, ganz andere Wirkungen hervorbrachten.

Wir haben gesehen, daß andere Substanzen, die das Vermögen besitzen, die Fäden gerinnen zu machen, dasselbe Verhalten zeigen wie die Essigsäure, wenn auch in viel schwächerem Grade. Auch der Alkohol verursacht in einem ersten Stadium das Heraustreten der Körnchen und ihr momentanes Kristallisieren, aber diese Wirkung hört schnell auf, um sehr bald der anderen Platz zu machen, die der Alkohol als Lösungsmittel auf den Schwefel ausübt. Eben dieselbe Tatsache beobachtete

ich bei anderen chemischen Reagentien, aber die schnelle, fast augenblickliche Wirkung der Essigsäure wurde von keinem erreicht, da ja keines sich mit ihr messen kann hinsichtlich der koagulierenden Macht, die sie auf die die Beggiatoa bildende Fadenmasse ausübt. Was sodann das Heraustreten der Tropfen betrifft, das man beobachtet, wenn die Beggiatoa-Pflanzen mit destilliertem Wasser behandelt oder sich selbst überlassen werden, so bringt man es in Beziehung zu den Bedingungen des Absterbens, denen die Beggiatoa auf diese Weise ausgesetzt wird; wir wissen aber, daß mit diesen Bedingungen des Absterbens der Zellen zunächst Erscheinungen der Osmose, sodann der Zerstörung verbunden sind.

Dies alles dient zur Erklärung der ersten Tatsache, des Heraustretens der Schwefelkörner. Was sodann das schnelle und vollständige Kristallisieren derselben betrifft im Gegensatz zu dem langsamen und unvollständigen, das sich zeigt, wenn die Tropfen in destilliertem Wasser oder in einer anderen indifferenten Flüssigkeit schweben, so will ich als sicher anführen, daß ich konstatieren konnte, daß die Essigsäure insofern einen sehr wichtigen Einfluß ausübt, als sie die Anordnung der Schwefelmoleküle verändert und sie aus dem flüssigen Zustande in den von Kristallen überführt. In der Tat kann man die Kristallisation von Schwefeltropfen, die man durch Schmelzen der Körnchen von Beggiatoa oder von Schwefelblüten im mikroskopischen Präparat erhalten hat, beschleunigen, wenn man einige Tropfen Essigsäure hinzufügt. Um uns aber noch besser davon zu überzeugen, können wir folgenden Versuch anstellen: Bekanntlich erhält man, wenn man ein alkalisches Polysulfur mit Salzsäure behandelt, außer dem entsprechenden Chlorür freien Schwefel durch die bekannte Reaktion:

$$K_2S_5 + 2\ HCl = 2\ KCl + H_2S + 4\ S.$$

Nun macht sich aber dieser Schwefel nicht im festen Zustande frei, sondern in Gestalt von kleinen, runden Kugeln, die ölig, lichtbrechend und ganz und gar denen ähnlich sind, die in den Beggiatoaceen enthalten sind; da sie sich in der Tat frei fortbewegen, fließen sie ineinander etc. Kurz es sind Schwefeltropfen, die nur einige Zeit nachher kristallisieren. Anstatt Salzsäure zu verwenden, habe ich dagegen versucht, mich der Essigsäure zu bedienen, die sich in ähnlicher Weise wie jene mit dem Alkali in Form von Acetat verbindet und den Schwefel frei macht durch folgende Reaktion:

$$K_2S_5 + 2\ C_2H_4O_2 = 2\ C_2H_3O_2 . K + H_2S + 4\ S.$$

Nun hat sich der Schwefel nicht nur sofort in Kristallform gezeigt, sondern die Kristalle haben sich stets so zierlich und vollkommen gebildet, daß es mir nie gelungen ist, ähnliche Präparate zu erhalten nach dem Festwerden des Schwefels infolge der Behandlung mit der Salzsäure.

* * *

Aus allem, was ich bis jetzt dargelegt habe, ergibt sich also auf unzweifelhafte Weise, daß man zu der ersten Auffassung zurückkehren muß, nach welcher die in den Beggiatoaceen[1])

1) Ich muß jedoch hier erklären, daß ich in dieser Arbeit beabsichtigt habe, ausschließlich über die Granulationen zu sprechen, die in den oben erwähnten, von mir untersuchten Gattungen vorhanden sind, welche ich in den Thermen von Porretta an-

enthaltenen Granulationen als aus reinem Schwefel bestehend betrachtet wurden. Außerdem kann man hinzufügen, daß dieser Schwefel sich im flüssigen Zustande befindet und daß es sich eher um Schwefeltropfen als um Granulationen handelt.

Damit kommen wieder alle Hypothesen zur Sprache bezüglich der Funktion des Organismus Beggiatoa und unter ihnen zuerst diejenige, welche die Beziehung betrifft, die zwischen diesem Mikroorganismus und dem Wasser existiert, das Schwefelwasserstoff enthält, in dem er sich entwickelt. Daß übrigens die Beggiatoa eine besondere Tätigkeit ausüben müsse auf den frei in Gewässern enthaltenen H_2S, war außer durch die Natur der früher genannten Körnchen durch praktische Tatsachen erwiesen, die sich dort zeigen, wo diese Organismen wachsen. In der Tat hatte Prof. G. Ravaglia, Direktor der nämlichen Thermen von Porretta, wo ich diese Arbeit habe vollenden können, vor einigen Jahren für die Abstellung eines sehr schweren Uebelstandes Sorge tragen müssen, der sich an den Leitungen des schwefelhaltigen Wassers, das zu den Inhalationen, Zerstäubungen und Duschen der Heilanstalt Puzzola dient, herausgestellt hatte. Die Beggiatoa hatte sich innerhalb der Leitungsröhren eingenistet, an den Verbindungsstellen derselben festgesetzt und breitete das Netz ihrer feinen Fäden so weit aus, daß sie die obere Hälfte ihres Lumens überzog, während das Wasser nur ihre obere Hälfte erfüllte. Mit der Zeit hatte sich zwischen den Netzen des Mikrophyten so viel Schwefel niedergeschlagen, daß letzterer eine fest anhaftende und einige Millimeter dicke Kruste gebildet hatte; beinahe das gleiche, was sich innerhalb der Eisenröhren der Beggiatoa Kühniana zeigt. Inzwischen gelangte das Wasser an seinen Bestimmungsort seines ganzen (oder beinahe seines ganzen) Schwefelwasserstoffgases beraubt. Diesem Uebelstande wurde dadurch abgeholfen, daß man die Quelle an einer möglichst tiefgelegenen Stelle auffing und die erwähnte Leitung durch eine neue ersetzte mit Röhren, die einen dem Volumen des Wassers entsprechenden Durchmesser hatten, so daß das Wasser nicht hindurchlaufen konnte, sondern das vollständige Lumen der Röhren erfüllte.

Aus der konstatierten Ablagerung von Schwefel und aus der auf diese Weise entstandene Verarmung des Wassers an Schwefelwasserstoff ergibt sich klar eine direkte Einwirkung der Beggiatoa auf die schwefelhaltigen Wasser. Einstweilen beschränke ich mich darauf, zu sagen, daß meiner Ansicht nach diese Einwirkung in einer Oxydation des Schwefelwasserstoffes besteht, ich hoffe jedoch, möglichst bald weitere Untersuchungen über dieses Thema veröffentlichen zu können. Und dieses ist nicht das einzige Problem, das noch zu lösen bleibt, es sind

---

getroffen habe. Ich bin deshalb weit davon entfernt, es ausschließen zu wollen, daß die Granulationen, welche man in andere Beggiatoen oder anderer Standorte antrifft, von anderer und verschiedenartiger Natur sein können, um so mehr, da Prof. Gasperini, der schon seit längerer Zeit vergleichende Untersuchungen an verschiedenen Exemplaren anstellt, die er an den verschiedenen Standorten gesammelt hat, mir erst kürzlich mitgeteilt hat, er habe in Migliarino bei Pisa an den Trichomen angewachsene Granulationen angetroffen, die von wahren lebenden Wesen herrührten. Deshalb würde ich es mit Freude begrüßen, wenn die Beobachtungen und Studien des ausgezeichneten Forschers Prof. Gasperini bald veröffentlicht würden, die gewiß äußerst interessant sein müssen, namentlich in Anbetracht seiner großen und unbestreitbaren Kompetenz auf diesem Gebiete.

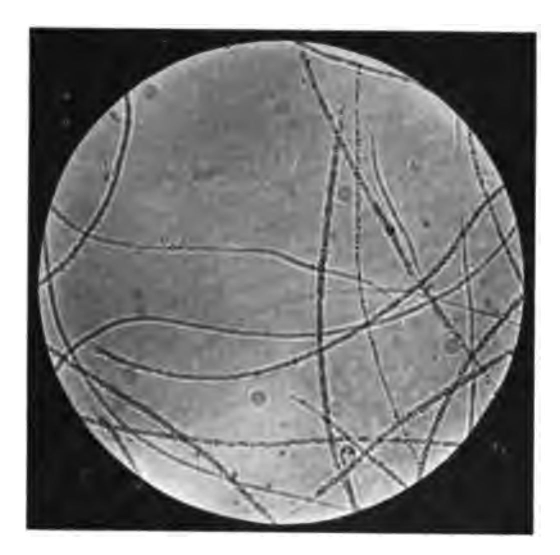


Fig. 1. Beggiatoa alba (Trevisan). Vergr. $^{500}/_{1}$.

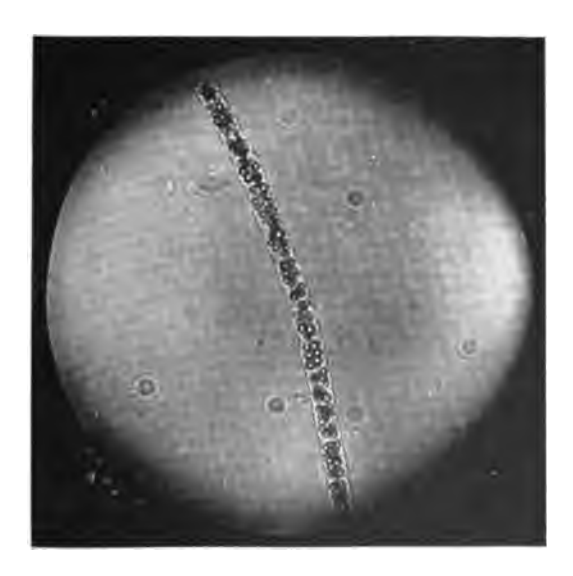


Fig. 2. Beggiatoa alba (Trevisan). Vergr. $^{1220}/_{1}$.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

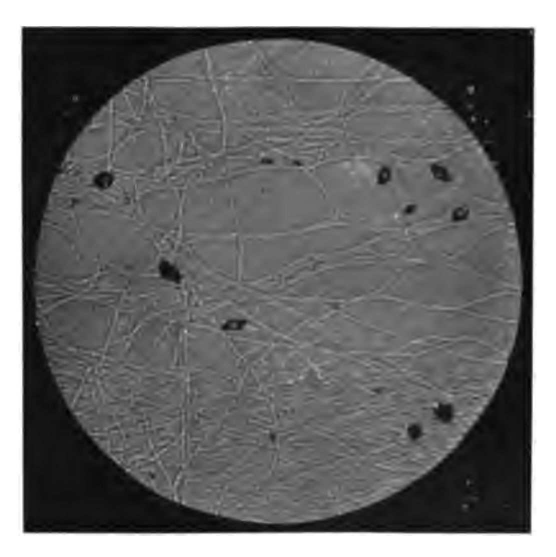


Fig. 3. Durch Einwirkung der Essigsäure aus der Beggiatoa gewonnene Kristalle. Vergr. $^{300}/_{1}$.

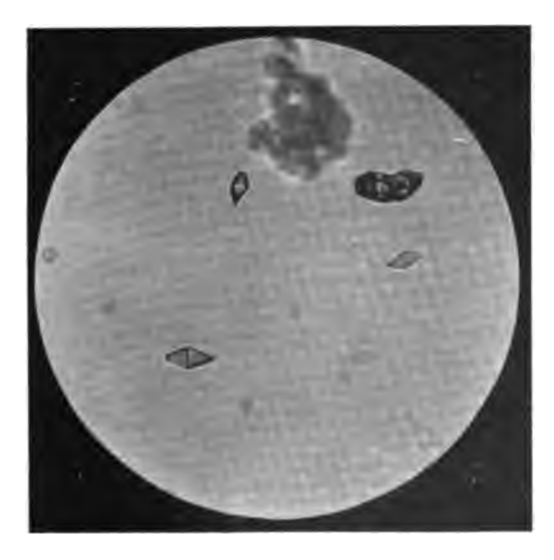


Fig. 4. Kristalle, die durch Auflösung in Chloroform und nach der Verdunstung desselben aus den „Schwefelblüten" gewonnen wurden. Vergr. $^{300}/_{1}$.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Fig. 5. Kristalle, die durch Auflösung in Chloroform und nach der Verdunstung desselben aus den durch Einwirkung der Essigsäure aus der Beggiatoa gewonnenen Kristallen gewonnen wurden. Vergr. $^{800}/_{1}$.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

noch sehr viele andere anatomische und physiologische zu lösen, von denen ich wünsche, daß sie bald aufgeklärt werden, damit das noch ungewisse und dunkle Feld beleuchtet wird, das diesen so wichtigen Teil der Bakteriologie umfaßt.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, meinen tiefgefühltesten Dank meinem ausgezeichneten Lehrer, dem Herrn Prof. Giorgio Roster, auszusprechen, der mich dadurch unterstützt hat, daß er diese meine Arbeit mit schönen mikroskopischen Photographieen ausgestattet hat, ferner den verehrten Mitgliedern der Direktion der Gesellschaft für die Thermen von Porretta, die mit größter Zuvorkommenheit jeden meiner Wünsche erfüllten hinsichtlich der Untersuchungen, die ich in Bezug auf diese äußerst wichtigen und heilkräftigen Quellen angestellt habe.

Literatur.

Cramer, Chem.-physik. Beschreibung der Thermen von Baden in der Schweiz. Von Ch. Müller. Baden 1870.
Cohn, J., Untersuchungen über Bakterien. II. (Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. 1875.)
Meyer, Lothar, Journ. f. prakt. Chemie. Bd. XCI. 1864.
Planchud, Recherches sur la formation des eaux sulfureuses naturelles. (Compt. rend. 29 janvier 1877.)
—, Sur la reduction des sulfates par les sulfuraires etc. (Compt. rend. 26 déc. 1882.)
Etard et Olivier, De la reduction des sulfates par les êtres vivants. (Compt. rend. 1882.)
Duclaux, Microbiologie. 1883.
Olivier, L., Expériences physiologiques sur les organismes de la glairine et de la baregine. Rôle du soufre contenu dans leurs cellules. (Compt. rend. 1888.)
Hoppe-Seyler, Ueber die Gärung der Cellulose etc. (Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. X. 1886. Heft 5.)
Winogradsky, Ueber Schwefelbakterien. (Botan. Ztg. 1887. No. 31—37.)
—, Beiträge zur Morphologie u. Physiologie der Bakterien. Heft I. Schwefelbakterien. 1888.)
Ravaglia, G., Resoconto del V° Congresso nazionale d'Idrologia e Climatologia in Parma. Seduta 4 Aprile 1898.
Gasperini, G., Sulla così detta Crenothrix Kühniana o Polyspora. (Atti della soc. Toscana di sc. naturali-Memorie. Vol. XVI. 1898.)

Ueber den Einfluss der Metalle auf gärende Flüssigkeiten.

[II. Mitteilung.]

Von **Leopold Nathan**, Zürich, unter Mitarbeit von **Arthur Schmid**.
(Referent **Willy Fuchs**.)

In meiner vom 10. März 1904 datierten vorläufigen Mitteilung[1]) habe ich bereits auf die nachhaltigen Wirkungen hingewiesen, welche auch nur in kleinen Mengen gelöste Metalle auf gärende Flüssigkeiten, sowie auf die physiologischen Funktionen der Hefe auszuüben vermögen. Beim Arbeiten mit kupfernen, innen verzinnten Reinzuchtapparaten hatte

1) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. II. 1904. Heft 1—3. p. 93.

ich öfters beobachtet, daß die Vergärung langsamer verlief, zumeist während des Sproßstadiums, daß die so erzeugte Hefe eine veränderte, körnige Struktur zeigte und daß Gärkraftbestimmungen einen geringeren Wert ergaben als unter gleichen Bedingungen in metallfreien Gefäßen gewachsene Hefe. Das mit der Reinzuchthefe aus Metallgefäßen vergorene Bier zeigte öfters einen abnormalen, metallisch bitteren Geschmack, wie man ihn etwa empfindet, nachdem man eine Kupfermünze eine Zeitlang auf der Zunge hat liegen lassen; dieser abnorme Geschmack und das verzögerte Ankommen der Hefe verlor sich meist erst nach der zweiten oder dritten Führung. Es ist allen Gärungsphysiologen bekannt, wie rasch der Zinnüberzug der Reinzuchtapparate, der doch verhältnismäßig wenig oder gar nicht geschruppt wird, verschwindet. Diese Tatsache in Verbindung mit den oben genannten brachte mich auf die Idee, ob den Metallen nicht doch eine größere Wichtigkeit bei den erwähnten Erscheinungen zukomme, als die bislang üblichen Anschauungen zuließen.

Ich stellte deshalb mit einer großen Reihe von Metallen, Metalllegierungen, sowie mit einigen Nichtmetallen Versuche an, die einerseits zur Feststellung der schädlichen Wirkung überhaupt, andererseits zu Vergleichen bezüglich des Gebrauchswertes der untersuchten Stoffe dienen sollten.

Die Versuchsanordnung war in allen Fällen die gleiche: In 1 Liter fassende Erlenmeyer-Kolben wurden je 800 ccm der Flüssigkeit (es gelangten teils Apfelmoste, teils gehopfte Bierwürzen zur Vergärung) gebracht und drei vorher sorgfältig von etwa anhaftendem Fett gereinigte Metallcylinder eingesetzt; darauf wurde mit Wattebausch verschlossen, sterilisiert und steril gelüftet, ein Gärverschluß mit Glycerin aufgesetzt, mit der Versuchshefe geimpft und täglich gewogen. Die von verschiedenen Firmen als dünne Bleche von möglichster Reinheit bezogenen Metalle waren in gleiche rechteckige Stücke geschnitten und zu cylindrischen Metallspiralen von 160 qcm Oberfläche zusammengerollt; es waren also pro Flasche 480 qcm Kontaktfläche wirksam. Je drei Kolben wurden zu einem Versuch vereint und der Mittelwert in den Tabellen aufgenommen. Aus der Gewichtsabnahme der Kolben und dem Unterschied zwischen dem Gewicht der Cylinder vor und nach der Gärung ließ sich ein genaues Bild der Giftwirkung der einzelnen Metalle gewinnen. Ehe ich die Unterschiede, die sich im Laufe der Untersuchungen ergeben haben, bespreche, ist es notwendig, die erhaltenen Resultate tabellarisch vorzuführen.

A. Versuche mit Obstmosten (siehe das Tableau).

Die Versuchsflüssigkeit war Apfelsaft von 9,05° B, welcher teils aus frischem, teils aus getrocknetem Obst bereitet wurde und 7‰ Säure enthielt; die Flaschen befanden sich unter Glyceringärverschluß und gleichem Druck. Gärtemperatur 15° C konstant. Die Wägung geschah täglich zu derselben Zeit in gleicher Reihenfolge und ohne zu schütteln. Es war unter Watteverschluß mit den Metallen $^5/_4$ Stunden im strömenden Dampf bei 85—87° C sterilisiert und nach Abkühlung je $^1/_4$ Stunde steril gelüftet worden. Die Impfung geschah mit 5 ccm eines Apfelsaftes, entsprechend 75000000 Zellen, welche aus einem Gefäß entnommen wurden, das während der ganzen Zeit des Anstellens gerührt wurde. Nach Beendigung des Versuches wurden die Metall-

cylinder sorgfältig abgespült, in Alkohol gelegt, mit weichem Tuch gründlich abgerieben, nochmals mit Wasser gewaschen, sorgfältig getrocknet und gewogen. Der gleichen Reinigung, sowie einer Behandlung mit Aether waren die Metalle vor Beginn des Versuchs unterzogen worden; sie wurden stets nur mit der Pinzette angefaßt.

Die Hefe von Stamm 111, durch 14 Jahre in metallfreien Gefäßen geführt, entstammte einer Reinkultur aus einer zur Champagnerfabrikation verwendeten Weinhefe und wurde vor dem Anstellen und während der Gärung öfters kontrolliert und für rein gefunden. Der Most war nur während der stürmischen Gärung mehr oder minder stark getrübt und die Hefe setzte sich in allen Flaschen rasch und fest ab; zugleich wurden alle Flüssigkeiten nach der Gärung wieder glanzhell.

Gehen wir die einzelnen Gärversuche durch, so beträgt die normale Kohlensäureabspaltung 32—34 g. Einen normalen Gärverlauf zeigten demnach Glas, Hartgummi, Weißblech, Silber, Gold, Alluminium, poliertes und gehämmertes Zinn, Eisen poliert, Nickel schwarz und Nickel poliert, Britania, Nickelstahl und Nickelstahl poliert, ebenso unpolierter und polierter nickelplatierter Flußstahl.

Anscheinend wirkten Celluloid, poliertes Eisen und poliertes Nickel, wenn auch nur in geringem Grade, gärungsfördernd; allerdings ist nicht zu entscheiden, ob die geringen als organische Salze gelösten Metallmengen allein anregend oder die glatten Oberflächen mechanisch einwirkten. Ich wäre eher der Ansicht, dem letzteren Faktor eine erhöhte Bedeutung zuzusprechen, da sich bei demselben Metall mit rauher oder polierter Oberfläche immer eine raschere Vergärung bei der polierten Oberfläche zeigte, z. B. Zink (46—51), ganz eklatant bei Eisen (55—59), bei welchem die Differenz $27^1/_2$ g Kohlensäure betrug, Nickel (60—65), Neusilber (78—83). Es ist auch auffallend, daß mit Ausnahme von Eisen sich bei den polierten Metallen keine typisch geringere Gewichtsabnahme gegenüber den nichtpolierten konstatieren läßt; bald beträgt sie etwas mehr, bald etwas weniger. Es wäre zu erwarten gewesen, daß die rauheren Metalle den Hefezellen mehr Ruhepunkte geboten und somit die Vorbedingung zu schnellerem Gärverlauf geschaffen hätten; trotzdem trat das Gegenteil ein, und wir müssen annehmen, daß in den mit polierten Metallen versehenen Flaschen wegen der verringerten Oberfläche eine geringere Vergiftung der Hefe stattfand; daß die an den nichtpolierten Metallen gelösten Mengen nicht nachweisbar größere waren, mag auf den geringen Unterschied in der Oberfläche der polierten und nichtpolierten Metalle, mit Ausnahme von Eisen, zurückzuführen sein. Fast noch wichtiger für die Praxis als die Kenntnis der indifferenten ist die der gärungshemmenden Metalle. Als besonders giftig erscheinen Zink, Kupfer, Messing, Neusilber, Bronze, Durana und allen voran schwarzes Eisen; als mittelstark Zinn, Blei, Alpacca.

Die beigegebenen graphischen Darstellungen sprechen am deutlichsten. Allein mit der Verzögerung oder Beschleunigung des Gärverlaufes ist die Eignung des Metalles nicht erschöpfend dargetan, denn neben Flaschen mit großen Mengen gelösten Metalls und geringer Verzögerung der Gärung kommen solche mit wenig gelöstem Metall und starker Verzögerung vor; z. B. Alpacca (66—68) mit 0,144 g Metall und 17,94 g CO_2 und nickelplatierter Flußstahl (84—86) mit 0,413 g Metall und 34,56 g CO_2 oder gar poliertes Eisen (57—59) mit 1,02 g Metall und 35,15 g Kohlensäure. Somit scheint jedes Metall eine spezifische Gift-

wirkung zu haben, nach der die gelösten Mengen erst in zweiter Li in Betracht kommen. Wenn wir dieses im Auge behalten, so muß d jenige Metall für die Praxis das brauchbarste sein, das bei absol Unschädlichkeit von der gärenden Flüssigkeit am wenigsten oder nicht gelöst wird und darum auch den Geschmack derselben nicht einträchtigt.

Silber, Gold, Glas, Hartgummi [1]) entsprechen diesen Bedingun vollkommen; Nickel, Aluminium [2]) kommen auch noch in Betra während von der Verwendung der übrigen Metalle und deren Le rungen vorteilhafter bei der Weinbereitung abgesehen werden so Für die Bierbereitung wird noch ein dritter Punkt als maßgebend geführt werden müssen, die Eiweiß ausfällende Wirkung der Meta davon mehr in einer späteren Versuchsreihe.

Von den Legierungen wäre noch zu sagen, daß ihre Giftwirk etwa das arithmetische Mittel der der Komponenten beträgt, ähnlich halten sich die gelösten Mengen; z. B. Messing, d. i. Kupfer und Z Neusilber, d. i. vernickeltes Messing, Alpacca, d. i. versilbertes N silber etc.

Aus den Versuchen geht endlich noch hervor, daß die Metalle möglichst größter spezifischer Dichte und glatter Oberfläche, d. i. poliert, Anwendung finden sollten.

(Siehe Tabelle p. 293.)

In dieser Reihe gelangte eine gehopfte Bierwürze von 11,8 P Balling zur Verwendung. Die Vorbereitung der Metalle, der Flaschen, angewandte Menge Flüssigkeit, die Sterilisation, Impfung und weitere handlung war der bei Versuchsreihe 1 geübten ganz analog. Zur Ver dung kam Hefe der Brauerei Uetliberg vom Typus Frohberg; die Gärte ratur betrug 17—20° C. Auffallend klein waren die Unterschied den Mengen der abgespaltenen Kohlensäure; die Ursachen werden der nächsten Reihe erörtert werden; infolge dieser Erscheinung das Gewicht der entwickelten Kohlensäure nicht als Kriterium aufg werden, sondern mehr die gelösten Mengen und das veränderte sehen der Würzen während der Gärung. In der folgenden Reih diesen Punkten deshalb eine erhöhte Aufmerksamkeit zu teil gewo

Es läßt sich jedoch bei gleichzeitiger Berücksichtigung von Ko säure- und Metallverlust konstatieren, daß Gold, Silber, Metheorit Glas zu den indifferenten, Kupfer gezogen und gehämmert, Mes Nickelstahl, Bronze, Aluminium-Bronze, Sibronit, Blei zu den mäßig Zinn, Aluminium, Weißblech, Britannia, Neusilber, Alpacca, Du Phosphorbronze, Zink und besonders Eisen in allen seinen Forme den stark schädlichen Stoffen gehören.

Aus den graphischen Darstellungen geht dies sehr deutlich he

(Siehe Tabelle p. 294.)

1) Hartgummi saugt jedoch mit der Zeit Flüssigkeit ein.
2) Nur als gewalztes und gehärtetes Blech, nicht gegossen.

ärende Flüssigkeiten

,324 ,299 ,289	0,304	10,970 9,955 —	10,46

B. Versuche mit Bierwürze.

Gärversuch No. II mit Bierwürze von 11,80 Proz. Balling[1]).
Gärdauer 14 Tage.

No.	Metall	Gewichtsabnahme d. Metallcylinder während d. Gärung g	Mittelwert g	Gebildete CO_2 g	Mittelwert g	No.	Metall	Gewichtsabnahme d. Metallcylinder während d. Gärung g	Mittelwert g	Gebildete CO_2 g	Mittelwert g
1		0		29,32		43		—		29,30	
2	Silber	0	0	29,40	29,44	44	Kupfer gezogen	0	0	29,52	29,42
3		0		29,60		45		0		29,54	
4		0		29,27		46		0		29,37	
5	Gold	0	0	30,35	29,68	47	Kupfer gehämmert	0	0	29,31	29,33
6		0		29,35		48		0		29,30	
7		0,135		30,17		49		0		29,17	
8	Nickelplatt. Flußstahl	0,115	0,125	29,24	29,60	50	Phosphorbronze	—	0	29,37	29,27
9		—		29,38		51		0		—	
10		0,020		—		52		0		29,33	
11	Nickel	0,025	0,022	29,31	29,26	53	Messing	0	0	29,42	29,37
12		—		29,31		54		—		29,31	
13		0,020		—		55		0		29,35	
14	Weißblech	0,018	0,019	29,15	29,21	56	Bronze	0	0	29,28	29,30
15		—		29,26		57		—		29,28	
16		0,189		29,35		58		0,142		29,10	
17	Zinn	0,225	0,173	29,46	29,41	59	Zink	—	0,142	29,33	29,22
18		0,105		29,41		60		3,143		—	
19		0,195		—		61		1,090		29,29	
20	Zinn, gehämmert	0,214	0,214	29,42	49,42	62	Eisen blank	—	1,033	29,25	29,20
21		0,234		29,42		63		0,975		29,14	
22		0,164		—		64		0,525		28,72	
23	Aluminium	0,162	0,163	29,48	29,43	65	Eisen schwarz	0,380	0,437	—	29,13
24		—		29,38		66		0,405		29,54	
25		0,023		30,37		67		0,363		29,47	
26	Nickelstahl	0,006	0,020	29,39	29,30	68	Stahl	0,345	0,354	26,64	28,00
27		0,030		29,15		69		—		27,75	
28		0,020		—		70		0,260		27,50	
29	Britannia	0,000	0,030	29,33	29,33	71	Stahl gehärtet	0,615	0,478	24,35	25,30
30		0,070		—		72		0,560		25,65	
31		0,022		30,36		73		0		28,95	
32	Blei	0,012	0,022	29,56	29,96	74	Metheorit	0	0	30,31	29,52
33		0,031		—		75		0		29,43	
34		0,023		29,35		76		0		29,32	
35	Neusilber	0,032	0,018	29,25	29,28	77	Aluminium-Bronze	0	0	29,19	29,30
36		0,000		29,25		78		—		29,39	
37		0,006		29,38		79		0		29,32	
38	Alpacca	0,012	0,006	29,24	29,27	80	Silbronit	0	0	29,37	29,37
39		0,000		29,39		81		—		29,50	
40		0,005		29,28		82		0		29,63	
41	Durana	0,013	0,009	29,26	29,28	83	Glas	0	0	20,21	29,42
42		—		20,30		84		—		—	

1) Der Kürze halber werden in dieser und den folgenden Tabellen nur die Endresultate angeführt.

Gärversuch No. III, mit Bierwürze von 11,80 Proz. Balling.

Gärdauer 50 Tage.

No.	Metall	Gewichtsabnahme der Metallcylinder	Mittelwert	Gebildete CO_2	Mittelwert	Aussehen der vorgorenen Flüssigkeit
1		0		26,83		glanzhell am
2	Silber	0	0	26,36	26,59	Ende des
3		0		21,70 ?)		Versuches
4		0		28,53		
5	Gold	0	0	27,85	28,16	glanzhell
6		0		28,10		
7	Nickel-	0,045		25,12		
8	plattierter	0,050	0,047	28,21	27,02	hell
9	Flußstahl	0,045		27,73		
10		0,035		28,75		
11	Nickel	0,036	0,030	28,27	28,26	hell
12		0,025		28,42		
13		0,015		28,265		
14	Weißblech	0,002	0,009	28,57	28,55	trüb milchig
15		0,009		28,80		
16		0		28,30		
17	Zinn	0	0	28,10	28,32	trüb milchig
18		0		28,56		
19		0		28,23		
20	Zinn gehämmert	0	0	28,15	28,13	trüb milchig
21		0		28,00		
22		0,013		28,94		
23	Aluminium	0,008	0,014	28,30	28,50	glanzhell
24		0,020		28,28		
25		0,024		27,66		
26	Nickelstahl	0,040	0,030	28,25	27,56	ziemlich hell
27		0,026		26,78		
28		0		27,40		
29	Britannia	0	0	29,65	28,38	fast hell
30		0		28,10		
31		0,037		28,02		
32	Blei	0,042	0,038	28,30	28,05	hellbraun
33		0,035		27,83		
34		0,017		27,68		
35	Neusilber	0,013	0,019	27,87	27,79	hell
36		0,028		27,83		
37		0,005		—		
38	Alpacca	0,005	0,005	27,55	27,40	hell
39		0,005		27,25		
40		0		28,03		
41	Durana	0	0	27,55	27,94	hell
42		0		28,25		
43	Kupfer, ge-	0		28,30		
44	zogen	0	0	28,35	27,98	hell
45		0		27,30		
46	Kupfer, ge-	0		27,55		
47	hämmert	0	0	27,65	27,42	hell
48		0		27,05		

No.	Metall	Gewichtsabnahme der Metallcylinder	Mittelwert	Gebildete CO_2	Mittelwert	Aussehen der [vorgorenen Flüssigkeit]
49	Phosphor-	0		27,60		nicht
50	bronze	0	0	26,00	27,75	hell
51		0		27,65		
52		0		27,38		hell
53	Messing	0	0	29,28	28,00	trüb
54		0		28,07		hell
55		0		28,15		
56	Bronze	0	0	27,40	27,92	ziemlic
57		0		28,20		
58		0,190		26,73		
59	Zink	0,190	0,135	26,54	26,64	hell g
60		0,025		—		

Gärdauer aller Fe-Versuche 62 Tage.

No.	Metall	Gewichtsabnahme der Metallcylinder	Mittelwert	Gebildete CO_2	Mittelwert	Aussehen der [vorgorenen Flüssigkeit]
61		0,415		14,52		
62	Eisen blank	0,408	0,407	26,13	17,62	trüb
63		0,397		12,20		
64	Eisen	+0,250		0	Kontrollversuch	Gärung, am Met Bierstein
65	schwarz	0,145	—	6,75	—	trüb sch
66		0,080		26,20		
67		0,540		—		trüb sch
68	Stahl	0,530	—	17,20	15,80	Metall
69		+0,430		14,40		Bierst
70		+0,470		10,47		trüb sch
71	Stahl, hart	+0,489	+0,520	15,85	10,41	Metall
72		+0,600		5,90		Bierst
73		0		28,90		
74	Metheorit	0	0	27,80	28,52	hell
75		0		28,85		
76	Aluminium-	0		26,50		
77	bronze	0	0	25,36	26,42	hell
78		0		27,40		
79		0		28,20		
80	Silbronit	0	0	27,64	27,74	hell
81		0		27,24		
82	Glas	0		26,20		
83		0	0	25,91	26,05	glanz

Gärversuch No. IIIa, analog Gärversu[ch]

Gärdauer 25 Tage.

No.	Metall	Gewichtsabnahme der Metallcylinder	Mittelwert	Gebildete CO_2	Mittelwert	Aussehen der [vorgorenen Flüssigkeit]
1	Glas	0		29,74		
2		0	0	29,58	29,66	glanz
3		0		29,36		
4	Silber	0,010	0,002	29,55	29,49	glanz
5		0		29,58		
6	Aluminium	0,020		29,58		
7		0,010	0,015	30,35	29,96	hell

Auch in dieser Reihe war die Versuchsflüssigkeit eine gehopfte Bierwürze von 11,8 Proz. Balling. Vorbehandlung und Beschickung der Flaschen war dieselbe, wie bei den früheren Versuchen. Geimpft wurde mit gleicher, aber geringeren Menge Hefe der Brauerei Uetliberg, Gärtemperatur 9° C konstant. Auch hier zeigen sich viel geringere Unterschiede in der Menge der gebildeten Kohlensäure, als bei den Versuchen mit Apfelmost. Die Grenzen sind so enge gezogen, daß sie beinahe innerhalb der durch die angewandte analytische Methode bedingten Versuchsfehler zu liegen kommen; es ist daher ein größerer Wert auf die gelösten Metallmengen, sowie auf das Aussehen der Würze während und nach der Gärung gelegt worden. Schon beim Sterilisieren zeigten die Flaschen mit Eisen und Stahl einen gräulichen Schimmer, der mit der Gärung grau und schwarz wurde; Zinn und Weißblech führten bei der Sterilisation das Braun der Würze in Gelb über und zeigten während der Gärung eine milchige Trübung. Die Bleiwürze wurde ebenfalls milchig, die Zinkwürze schmutzig grün. Trotzdem die Bierwürze viel weniger Säure enthält, als die Fruchtsäfte, dementsprechend nur geringere Mengen der Metalle zu lösen im stande ist, trozdem die Bierwürze einen viel günstigeren Nährboden für die Hefe darstellt und die an und für sich geringeren Mengen gelöster Metalle noch weniger hemmend auf den Gärverlauf einwirken können, ist die Empfindlichkeit der Würzen eine viel größere durch die Eigenschaft der kolloidalen Eiweißkörper, sich schon mit analytisch schwer oder gar nicht nachweisbaren Mengen von Metallsalzen auszuscheiden bezw. zu koagulieren.

Wie bereits erwähnt, läßt sich aus der Menge der abgespaltenen Kohlensäure kein maßgebender Schluß auf die Schädlichkeit des Metalles ziehen; so z. B. zeigt Versuch 3 von Silber, sowie Glas 82, 83 eine Verzögerung, wie sie sonst bei diesen Stoffen nicht aufzutreten pflegt; es wurde deshalb eine Nachprüfung in Versuchsreihe IIIa durchgeführt.

Aus dem vorhandenen Material läßt sich jedoch mit Berücksichtigung der Farbänderungen und Ausscheidungen ungefähr erkennen, daß Gold, Silber, Glas zu den indifferenten, Metheorit, Kupfer, Durana, Nickel zu den schwachen, die übrigen, besonders aber Eisen, Zink, Phosphorbronze, Neusilber, Bronze, Blei, Messing und Zinn, Aluminium, Weißblech zu den sehr schädlich wirkenden Stoffen gehören, während Britannia, Silbronit, Nickelstahl und Aluminiumbronze eine mittlere Schädlichkeit besitzen.

Zu erwähnen ist, daß Metheorit wahrscheinlich eine Aluminium-, Nickel-, Durana-, eine Kupfer-, Nickel-Legierung von unbekannter prozentischer Zusammensetzung ist.

Die zur Kontrolle durchgeführte Versuchsreihe IIIa ergab mit Versuchsreihe II übereinstimmende Resultate.

Als Ergebnis dieser Versuchsreihen kann angenommen werden, daß Obstmoste trotz ihres höheren Säuregehaltes und damit verbundenem höheren Lösungsvermögens für Metall zwar in der Gärung stark gehemmt, doch in ihrer organischen Zusammensetzung nicht so schwer geschädigt werden als Bierwürzen; bei diesen genügen die geringsten Mengen gelösten Metalles, um durch Eiweißausfällung ihre organische Zerstörung herbeizuführen. Für Fruchtmoste sollten nur gläserne, glasemaillierte, vernickelte Gefäße und allenfalls noch Armaturen aus Aluminium zur Verwendung gelangen; für Biergärungen gilt dasselbe mit Ausnahme von Aluminium, an dessen Stelle Kupfer tritt. Alle Metallgegenstände sollten eine möglichst glatt polierte Oberfläche haben.

(Weitere Mitteilungen folgen.)

Nachweis von Saccharomyces ellipsoideus im Weinbergsboden.

Von H. Müller-Thurgau.

Unfruchtbaren Prioritätsstreitigkeiten abgeneigt, würde ich mich einer Antwort auf die in Heft 1 dieses Jahrganges, p. 9—14, erschienene Notiz von Berthold Heinze enthalten haben, wenn mein Stillschweigen nicht zu falscher Deutung Veranlassung geben könnte. In einem auf dem Weinbaukongreß in Trier erstatteten Referate: Neue Forschungen auf dem Gebiete der Weingärung und deren Bedeutung für die Praxis[1]), habe ich unter anderem über Versuche berichtet, die den Nachweis lieferten, daß Saccharomyces ellipsoideus sich zu verschiedenen Zeiten im Boden des Weinberges der Kgl. Lehranstalt in Geisenheim vorfand. Und zwar fand sich die Hefe, wie die diesbezüglichen Versuchsreihen ergaben, nicht nur an der Oberfläche des Bodens, sondern auch in der Tiefe, und zwar durchschnittlich bis 20—30 cm tief; bei 40 cm wurde keine Hefe mehr gefunden. Hiermit hatte ich den vollgültigen Beweis des Vorkommens von Sacch. ellipsoideus im Weinbergsboden erbracht, und zwar des ausnahmslosen Vorkommens in verschiedenen Parzellen und in verschiedenen Schichten bis zu einer gewissen Tiefe.

Nun führt Heinze, nach Anführung meiner Darlegungen in einer p. 10 und 11 umfassenden Anmerkung, auf p. 14 aus: „Diese Ueberwinterung echter Hefepilze in der Erde, also auch der Weinhefe, ist nun von E. Chr. Hansen schon im Jahre 1882 experimentell festgestellt worden.“ Leider unterläßt er, den betreffenden Passus der in Betracht kommenden Abhandlung Hansens[2]) wörtlich anzuführen, was mir eine Erwiderung erspart hätte. Es sei dies hier nachgeholt. Hansen schreibt daselbst: „Es ist sehr wahrscheinlich, das die anderen Arten der gleichen Gattung in der Natur eine analoge Zirkulation (wie S. apiculatus) haben. Daß Formen, wie S. cerevisiae, S. Pastorianus und S. ellipsoideus, auf süßen und saftigen Früchten leben und sich vermehren können, ist eine bekannte Tatsache, die auch durch meine Beobachtungen bestätigt wurde. Direkte Versuche mit diesen drei Arten haben mir außerdem gezeigt, daß wenn man sie im Herbst mit Erde in Blumentöpfe bringt, die nachher im Garten eingegraben werden und hier ohne Schutz allen Einflüssen der Luft ausgesetzt bleiben, sie sich lebend erhalten bis zum folgenden Sommer. Es folgt also, daß außer S. apiculatus auch die anderen Saccharomyces in der Erde überwintern können, aber das beweist nicht, daß die Erde für sie der normale Ueberwinterungsort sei, wie für S. apiculatus.

---

1) Bericht über die Verhandlungen des XI. deutschen Weinbaukongresses in Trier im September 1889. Mainz 1889. p. 80—100. Vergl. auch Müller-Thurgau, Ueber den Ursprung der Weinhefe etc. in „Weinbau und Weinhandel“. 1889. No. 40.

2) Recherches sur les organismes qui, à différentes époques de l'année se trouvent dans l'air, à Carlsberg et aux alentours et qui peuvent se développer dans le moût de la bière. (Compt. rend. des Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. Bd. I. 1881. Heft 3. p. 203.)

Ich setze daher diese Untersuchung noch fort und werde in einer weiteren Arbeit über die Ergebnisse berichten."

Hansen hat also 1882 (bei Kopenhagen) festgestellt, daß die Hefen S. apiculatus, S. ellipsoideus und S. Pastorianus, in Töpfe mit Erde gebracht, im Freien darin überwintern können.

Ich dagegen habe 1889 im eigentlichen Weinlande des Rheingaues nachgewiesen, daß in sämtlichen Parzellen eines größeren Weinberges zu verschiedenen Jahreszeiten neben anderen Pilzen auch S. ellipsoideus sich vorfindet, und zwar von der Oberfläche bis zu ca. 30 cm Tiefe.

Ich muß, ohne gerade großes Gewicht darauf zu legen, doch daran festhalten, daß es mir in der erwähnten Arbeit gelungen ist, den ersten Nachweis für das natürliche Vorkommen von Sacch. ellipsoideus im Weinbergsboden zu liefern und die Herkunft der im Weine hauptsächlich wirksamen Hefe darzutun.

Ueber die Herstellung von Käse aus sterilisiertem Eiereiweiss.

Ein Beitrag zur Frage über die Bedeutung der Bakterien für die Käsereifung.

[Aus dem Städt. bakt. Laboratorium zu Padua.]

(6. Mitteilung.)

Von Dr. **Antonio Rodella.**

Neulich veröffentlichten v. Freudenreich und Thöni im „Landw. Jahrb. d. Schweiz" [1]) eine Arbeit, „Ueber die Wirkung der verschiedenen Milchsäurefermente auf die Käsereifung" betitelt.

Obwohl ich mir vorgenommen hatte, erst nach Abschluß meiner diesbezüglichen Versuche der Frage des Reifungsprozesses näher zu treten, sehe ich mich nunmehr durch die obengenannte Arbeit genötigt, einstweilen diese Mitteilung zu machen. Vor allem sei mir ein Bericht über die Freudenreich und Thönische Arbeit gestattet.

Nach einer eingehenden Beschreibung der morphologischen und biologischen Eigenschaften der Milchsäurefermente α, γ, δ, εR und εM führen die Autoren einige Versuche an, welche den Beweis liefern sollen, daß diesen Fermenten eine große Bedeutung für die Käsereifung zukomme. Um das zu demonstrieren, wurden kleinere und größere Versuchskäse aus der möglichst aseptisch gewonnenen Milch hergestellt. Die zur Verwendung kommende Milch wurde auch regelmäßig auf ihren Bakteriengehalt untersucht. Was die Käse selber anbelangt, so wurden sie im Alter von 4—5 Monaten bakteriologisch und chemisch untersucht, nachdem sie vorher auf Geschmack, Reifung u. s. w. genau geprüft worden waren.

---

1) XVIII. Jahrg. 1904. Heft 11.

Für die bakteriologische Analyse wurden gewöhnlich Gelatineplatten verwendet und Milchzuckeragarstichkulturen angelegt, letztere, um die eingeimpften Milchsäurefermente, die auf gewöhnlicher Nährgelatine meist nicht wachsen, wiederfinden zu können. In der zweiten und dritten Versuchsreihe wurden von jedem Käse anaërobe Burrische Schüttelkulturen in Peptonschottenagar angelegt. Die Gesamtresultate der ganzen Arbeit sind in drei Tabellen sehr schön zusammengestellt und auch bei diesen Versuchen glauben die Autoren, den großen Einfluß der Milchsäurefermente auf die Reifung der Käse nachgewiesen zu haben. Nicht so zufrieden wie mit den Milchsäurefermenten sind die Autoren diesmal mit einem verflüssigenden Micrococcus, welcher gemäß der früheren Untersuchungen hätte eine wichtige Rolle spielen sollen, während er tatsächlich nach dem letzten Urteil der Autoren in den Hintergrund getreten ist.

Auch die Anaërobien gelangen in dieser Arbeit zu einer kurzen Erwähnung, und zwar in einer Weise, die mich zwingt, lauten Protest zu erheben. v. Freudenreich und Thöni schreiben in ihrer Arbeit folgendes: „Einen weiteren Versuch machten wir mit dem von Weigmann beschriebenen Paraplectrum foetidum, indem zwei Käse, von denen der eine mit Naturlab, der andere mit Kunstlab hergestellt wurde, je eine Kultur dieser Bakterien zugesetzt erhielten (ca. 80 ccm). Der erstere, der also auch Milchsäurefermente erhielt, reifte normal, hatte jedoch einen leichten unangenehmen Beigeschmack. Da Paraplectrum foetidum sich im Käse jedenfalls nicht weiter entwickelt hatte — aus demselben ließ es sich am Ende der Reifung nur noch in geringer Menge isolieren — scheint uns wahrscheinlich, daß dieser Beigeschmack von dem bloßen Zusatz der Milchkultur herrührte, die mit einem entsetzlichen Gestank behaftet war. Der Kunstlabkäse reifte sehr schlecht, hatte auch am wenigsten Zersetzungsstickstoff, ein Beweis, daß Paraplectrum foetidum jedenfalls bei der Reifung der Emmentaler Käse keine Rolle spielt.

Ueberhaupt gelang es uns nie, obwohl jedesmal aus der auf 80° erwärmten Käseemulsion anaërobe Burrische Peptonschottenagarschüttelröhren angelegt wurden, streng obligate Anaëroben, wie Paraplectrum foetidum und die gewöhnlichen Buttersäurebacillen zu isolieren."

Ich möchte nur diesen, mich betreffenden Punkt ins Auge fassen und das übrige dem Urteil des Lesers überlassen.

Was also die Anaërobien betrifft, so gebe ich vor allem meiner Freude Ausdruck darüber, daß es diesmal den zwei genannten Autoren wenigstens gelungen ist, das eingeimpfte Paraplectrum foetidum wiederzufinden. Wenn ich mich recht erinnere, war dasselbe in früheren Arbeiten als verschwunden angeführt. v. Freudenreich und Thöni konnten aber mittels ihrer Technik in den übrigen Käsen keine Anaërobien isolieren. Das steht im direkten Widerspruch mit den von mir nachgewiesenen Tatsachen, weshalb ich eine nähere Besprechung für angezeigt erachte.

Als ich im Jahre 1900 meine Untersuchungen über die Anaërobien des Säuglingsstuhles begann, bediente ich mich, wie es v. Freudenreich noch heute tut, des Liborius-Veillonschen Verfahrens, welches soviel wie die Burrische Methode bedeutet.

In seinem Referat über meine erste Publikation auf dem Gebiete

der Darmanaëroben äußerte sich Moro[1]) ganz richtig in folgender Weise: „Bei der Züchtung der Anaëroben bediente sich Rodella vorwiegend der sogenannten Schüttelkultur auf Agar und Gelatine, welche Methode mit Rücksicht auf die Schwierigkeiten, strikte Anaërobionten zu erhalten, heute als unzureichend bezeichnet werden muß.“

Ich war schon damals mit der nachträglichen Kritik von Moro so einverstanden, daß ich bereits in meinen Schlußfolgerungen die wenigen negativen Resultate meiner Untersuchungen der mangelhaften Technik zuschrieb.

Es handelte sich aber damals um ein an sporulierenden Anaërobien reichhaltiges Material und andererseits konnte ich mich mit den gewonnenen Resultaten zufrieden geben, da auf dem Gebiete Angaben über Anaërobien fast gänzlich fehlten. In meinen späteren Untersuchungen hatte ich genügende Gelegenheit, bei der Durchmusterung der mikroskopischen Präparate zu unterscheiden, in welchen Fällen die von mir anfänglich angewandte Technik zulässig sei oder nicht. Außerdem konnte ich bei der erlangten Routine mit der Burrischen Methode alles erzielen, was sich daraus überhaupt erzielen läßt. In den übrigen Fällen habe ich, wie bereits an verschiedenen Orten erwähnt, ein Anreicherungsverfahren verwendet, welches einerseits den Vorteil hat, über die Zahl der in einem Material vorhandenen Anaërobien gewissermaßen zu orientieren, andererseits weitaus bessere Resultate liefert als die bisher vorgeschlagenen Methoden. Die von mir angewandte Technik besteht in einer Vereinigung der zuerst von Passini[2]) für die Isolierung des Putrificus aus dem Darminhalt benützten Verfahrens mit dem Botkinschen.

Das Material wird bekanntlich in Grubersche Röhrchen hineingetan, welche auf 120° sterilisiertes Eiereiweiß enthalten. Was von großer Bedeutung ist, hauptsächlich wenn es sich nicht um die Isolierung des Putrificus allein handelt, ist das Quantum Wasser, das dem Eiweiß hinzugefügt wird. Achalme[3]) gibt richtig an, daß das Wasser das zehnfache Volumen des verwendeten Eiereiweißes darstellen soll. Das ist ein nicht zu vernachlässigendes Detail, jedoch hat Achalme diese Methode nicht als Isolierungsverfahren benützt, was vielmehr das Verdienst Passinis gewesen ist. Die Vereinigung dieser Technik mit der Botkinschen hat für quantitative Untersuchungen auf Anaërobien den Vorteil, daß man in die Botkinschen Milchflaschen den ganzen Inhalt der Gruberschen Röhren hineintun kann. Wenn es natürlich darauf ankommt, ganz exakt vorzugehen, sind außer Milch auch andere anaërobe Nährböden heranzuziehen. Nun handelt es sich auch in der Arbeit von v. Freudenreich und Thöni um den quantitativen Nachweis von Anaërobien. Die genannten Autoren pflegen im Widerspruch mit den auf diesem Gebiet von anderer Seite gemachten Forschungen eine Technik zu verfolgen, welche bei den hier gegebenen Verhältnissen ganz sicher zu negativen Resultaten führen muß. Es kommt jedesmal die auf 80° erwärmte Käseemulsion zur Erwähnung, aus welcher durch die anaërobe Burrische Peptonschottenagarschüttelröhren streng obligate Anaërobien isoliert werden sollten! Als ob diese alle in jedem Substrate not-

1) Monatsschr. f. Kinnerheilk., Bd. I. 1903. Literatur 1902.
2) Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LVII. 1902.
3) Annales de l'Instit Pastuer. 1902.

wendigerweise mit Sporen versehen sein müßten. v. Freudenreich und seine Schüler scheinen die verdienstlichen Arbeiten der Wiener Schule völlig zu ignorieren, welche zeigen, daß sehr zahlreiche Anaërobienstämme durch Ueberimpfung auf passende Nährböden beweglich, sporulierend und fäulniserregend gemacht werden, auch wenn sie ursprünglich sporenfrei sind. Sie ignorieren z. B., daß der Fränkelsche Gasphlegmone-Bacillus, welcher in den Händen von Fränkel und anderen Autoren nie zur Versporung kam, leicht zur Versporung zu bringen ist auf dem von Passini angegebenen Eiereiweißnährboden. Sie ignorieren ferner, daß viele sporenbildende Anaëroben, in Milch überimpft, wieder in sporenfreie Formen übergehen, daß also viele sporenbildende Anaërobien, wenn sie aus der Umgebung in die zur Herstellung des Käses verwendete Milch gelangen, hier die sporenbildende Eigenschaft verlieren.

Die Anwendung einer hohen Temperatur (80°) behufs Abtötung der vegetativen Formen, um die eventuell vorhandenen anaëroben Sporen auskeimen zu lassen, muß bei Untersuchungen von Milch und Milchprodukten auf Anaërobenbakterien von vornherein ausgeschlossen werden, falls nicht eine Anreicherung der letzteren in einem für die Sporenbildung günstigen Medium stattfindet, oder man muß sich damit begnügen, nur große Mengen von Material zu untersuchen, um eventuell die paar Sporen herauszüchten zu können. Andererseits gibt es bekanntlich verschiedene Anaërobien, bei welchen Sporen nicht nachgewiesen werden konnten.

Die von v. Freudenreich und Thöni angestellten bakteriologischen Untersuchungen beweisen also, was die Anaëroben anbetrifft, soviel wie nichts. Ob dieselben in anderer Hinsicht beweiskräftig sind, mag der Leser selber beurteilen, wenn er die hier besprochene Arbeit mit den früheren von v. Freudenreich veröffentlichten Arbeiten vergleicht.

Nun will ich über einige von mir mit sterilisiertem Eiereiweiß angestellte Versuche berichten.

Ich nahm cylindrische Glasgefäße von 10 cm Durchmesser und 20 cm Höhe, wusch und trocknete sie gut und ersetzte den geschliffenen Pfropfen durch einen Pfropfen aus Watte. In diese wie gewöhnlich auf 150° sterilisierten Gefäße tat ich mittels einer sterilen Pipette entnommenes Eiweiß von je 10 Eiern und sterilisierte dann das Ganze $^{1}/_{2}$ Stunde lang im Kochschen Topfe. Hierauf brachte ich eine Mischung hinein, bestehend aus 50 ccm einer sterilisierten 10-proz. Kochsalzlösung und aus 50 ccm einer gut entwickelten Milchkultur (von 5—6 Tagen) der Anaërobien, die ich aus den Käsen isoliert hatte. — Von diesen Anaërobien haben die meisten die Eigenschaft, das Kasein und andere Eiweißarten zu peptonisieren, weshalb ich dieselben mit der von Achalme vorgeschlagenen Bezeichnung Bacilles anaérobies tryptobutyriques[1]) belegt habe. — Es wurde ferner einer Milchkultur von Bacterium lactis acidi (ca. 10 ccm) hinzugefügt. Das Ganze wurde nun in den Gelatinebrutschrank auf 22° gestellt, dort 4 Tage lang ge-

1) Unter diesen Bacillen habe ich einen gefunden, welcher auch in Agar einen süßen Geschmack und einen angenehmen käseartigen Geruch entwickelte und nach meinem Dafürhalten für die Käsereifung eine besondere Rolle spielen dürfte. Ich werde demnächst in einer anderen Mitteilung auf diesen zurückkommen.

lassen, darauf die Flüssigkeit mittelst einer großen sterilisierten Pipette den Gefäßen entnommen. In Anbetracht der breiten Oeffnung der verwendeten Gefäße war eine Infektion durch die gewöhnlichen Luftkeime sehr leicht. In einem Fall war in der Tat das Eiereiweiß nach 4 Wochen von Schimmelpilzen bedeckt. Ich entnahm nun mittels eines Messers den Inhalt, welcher wegen der Zersetzung des Eiereiweißes an den Randpartieen und zugleich wegen der Verdunstung und Austrocknung an Volumen verloren hatte, entfernte die von Schimmelpilzen bedeckte Kruste wie auch alle peripherischen Randpartieen des Käses und ging dann an die Geschmacksprobe. Obwohl ein großer Unterschied vorhanden war, wies dieser Käse immerhin im Geschmack eine Aehnlichkeit auf mit dem Gorgonzolakäse, wie auch wieder mit dem von den Italienern Grasso di Montagna bezeichneten Käse. Diesem meinen Urteile stimmte auch der Direktor des Laboratoriums bei, welcher ebenfalls ein Stückchen des obigen Käses gekostet hatte, desgleichen der Assistent des städtischen chemischen Laboratoriums. Der Käse zeichnete sich durch einen penetranten schlechten Geruch aus, während der Geschmack weder den zwei Herren, noch mir irgendwie unangenehm erschien. Es war aber, wie gesagt, schwer, diesen Geschmack mit dem Geschmack einer bestimmten Käseart zu vergleichen, wenn auch außer Zweifel stand, daß er nur mit dem Geschmack der Weichkäse Aehnlichkeit hatte. Das Eiereiweiß in diesem Käse war nicht mehr weiß, sondern zeigte eine gelbliche Farbe. Ferner wies die Schnittfläche viele kleine Löcher auf.

In den übrigen 3 Versuchen, die ebenfalls mit Anaërobenkulturen und Bact. acidi lactis angestellt wurden, bei denen aber keine Verunreinigung durch Schimmelpilze stattgefunden hatte, wurde nach zweimonatigem Aufenthalt im Gelatinebrutschrank bei 20° eine deutliche Reifung konstatiert. Von einem unangenehmen Geruche war hier nichts zu bemerken. Der Geschmack war sehr angenehm und erinnerte etwas an frischen Limburger Käse. Der Teig war auch hier gelöchert und von gelblichem Aussehen.

Als Kontrolle diente ein kleiner Versuchskäse, welcher in der oben angegebenen Weise ausschließlich mit Bact. acidi lactis hergestellt wurde. Dieser Käse kam zu keiner Reifung, ein Beweis dafür, daß wenigstens bei diesen Versuchen für das Auftreten der Reifung die Anaërobenbakterien notwendig waren.

Mit diesen wenigen Versuchen habe ich gewiß nicht die Absicht gehabt, einen Weg zur Herstellung eines Produktes vorzuschlagen, welches in kaufmännischer Beziehung den aus Milch hergestellten Käsen zur Seite gestellt werden sollte oder könnte; dazu wäre das Eiereiweiß überhaupt zu teuer. Es kam mir nur darauf an, die Frage vom allgemeinen Standpunkte aus zu studieren, ohne vorläufig die praktische Seite zu betrachten.

Da in der Regel diejenigen Käse am besten sind, in welchen sich der meiste Zersetzungsstickstoff vorfindet, so müssen schon von vornherein die von mir in jeder Käsesorte nachgewiesenen Anaërobien für den Reifungsprozeß von Bedeutung sein und diese Voraussetzung ist in den wenigen hier mitgeteilten Versuchen völlig zur Geltung gekommen. Die Eiweißgärung ist, wie schon Pasteur angenommen hat und wie von der neuesten Forschung erhärtet worden ist, hauptsächlich das Produkt von anaëroben Mikroorganismen. Ich brauche diesen Punkt nicht

näher zu präzisieren, da die hervorragenden Arbeiten auf diesem Gebiete dem Leser so gut wie v. Freudenreich bekannt sein dürften. Es sei mir nur erlaubt, anzufügen, daß ich bei meinen Untersuchungen über Zahnkaries habe feststellen können, daß Anaërobien auch bei der Zerstörung des Zahnknorpels notwendigerweise tätig sein müssen. Auch hier, wo doch ebenfalls eine Eiweißgärung in Frage kommt, hat man geglaubt, die Bakterien, die für diese Erscheinung verantwortlich zu machen sind, unter den Aërobienarten allein suchen zu müssen.

Gerade deshalb, weil also die Eiweißgärung nicht nur spezielle Bedeutung für die Landwirtschaft hat, sondern von allgemeinem, insbesonders aber medizinischen Interesse ist, habe ich mir erlaubt, auf die Arbeit von v. Freudenreich und Thöni hier aufmerksam zu machen.

Entgegnung auf das Referat in Heft 18, Band XIII. dieser Zeitschrift.

Von Dr. **Paul Ehrenberg,** Breslau.

In dem Heft vom 18. November 1904 dieser Zeitschrift findet sich ein Referat über meine in den Landw. Jahrbüchern. Bd. XXXIII. 1904. Heft 1. erschienene Arbeit: „Die bakterielle Bodenuntersuchung in ihrer Bedeutung für die Feststellung der Bodenfruchtbarkeit," auf das ich mit einigen Worten einzugehen genötigt bin, da es trotz seiner räumlich eringen Ausdehnung sehr viele Punkte meiner erwähnten Arbeit einer gritik unterzieht. Zur Entschuldigung dafür, daß diese Erwiderung meinerseits so lange auf sich warten ließ, sei bemerkt, daß ich wegen Wechsels meiner bisherigen Stellung dienstlich in den letzten Monaten stark in Anspruch genommen war. Außerdem kam mir auch die fragliche Rezension erst ziemlich verspätet zu Gesicht, da der Herr Autor mir leider ein Exemplar nicht zugesandt hatte. —

Zunächst stellt in dem Referat der Herr Autor meine Angabe richtig, daß „Hiltner, Koch und Thiele bei den bodenbakteriologischen Untersuchungen die Zählung der Bakterien in den Vordergrund stellen". Er bemerkt dazu: „Es ist dies eine irrtümliche Auffassung Ehrenbergs, da weder von dem einen noch von dem anderen der genannten Autoren ein derartiger Ausspruch gemacht worden ist."

Dazu sei bemerkt, daß sich in meiner ganzen Arbeit die Behauptung, einer dieser Herren hätte „einen derartigen Ausspruch gemacht", nirgends findet. Meine Auffassung, daß die genannten Forscher die Bakterienzählung in den Vordergrund stellen, stützte sich eben gar nicht auf solchen Ausspruch, dürfte aber immerhin nicht ganz ungerechtfertigt erscheinen, wenn man bedenkt, daß in der in meiner Arbeit angezogenen Sitzung des Sonderausschusses der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft die Vorträge der drei genannten Herren sich ganz wesentlich mit der Zählung der Bodenbakterien beschäftigten, daß ferner eine

große Arbeit Hiltners[1]), sowie auch eine andere Thieles[2]) seitdem in die Oeffentlichkeit gelangten, in denen vorzugsweise das erwähnte Forschungsmittel Beachtung gefunden hat.

Weiter wird eine auf p. 51 meiner Arbeit befindliche Angabe über den in Abzug gebrachten substituierbaren Stickstoff der blinden Lösungen bemängelt. Ich bin mir hier nicht sicher, was eigentlich getadelt wird. Denn gleich oben auf der folgenden Seite meiner Arbeit findet sich die Angabe der diesbezüglichen Mengen, indem Gesamtstickstoff wie substituierbarer Stickstoff der blinden, ohne Impfung verbliebenen Lösungen zahlenmäßig nachgewiesen wird. Dies scheint übersehen zu sein! Dazu gefundenen Mengen sind die substituierbaren Stickstoffs so gering, daß sie teilweise auf der Grenze der überhaupt feststellbaren Stickstoffmengen stehen; man sieht, daß eine auf so engen Raum zusammengedrängte Rezension einer größeren Arbeit oft nicht einmal dem angegriffenen Autor über die gerügten Fehler Klarheit giebt[3]).

Endlich sei der Punkt der Kritik besprochen, der zweifellos an sich voll berechtigt ist, nämlich der Wunsch nach Mitteilung des Beobachtungsmaterials im einzelnen, nicht nur in Durchschnittsziffern.

Allerdings ist für das von mir benutzte Verfahren nicht der Wunsch, „einen nicht mehr ungewöhnlichen Weg“ zu beschreiten, die Ursache gewesen. Es war nur die Ueberlegung meinerseits, daß das sehr große Zahlenmaterial, das für einen in meiner Arbeit mitgeteilten Denitrifikations-, Nitrit- und Nitratbildungswert sich auf etwa je 50 Zahlen belaufen hätte, und auch für die sonstigen Untersuchungen nicht gerade klein war, die Annahme der Arbeit eines Anfängers bei einer unserer wissenschaftlichen Zeitschriften außerordentlich erschwert haben würde. War sie doch ohnehin reichlich umfangreich. Der Herr Autor der hier behandelten Kritik, der ja selbst noch nicht allzulange wissenschaftlich tätig ist, wird vielleicht aus diesem Gesichtspunkt meine Handlungsweise verstehen.

Um aber ihm und anderen Gelegenheit zu geben, auch bezüglich der Uebereinstimmung der Parallelwerte Kritik üben zu können, erlaube ich mir, für den Vegetationsversuch, wie für die bemängelten Stickstoffabbau- bezw. Fäulniskraftuntersuchungen des ersten Teils meiner Arbeit in folgendem die Ergebnisse der Paralleluntersuchungen einzeln zu geben. Bei den dann wiedergegebenen Ergebnissen der Untersuchungen von Giltay-, Nitrit- und Ammon-Omeliansky-Lösungen aus dem ersten Teil meiner Arbeit mußte ich leider, um nicht die Gastfreundschaft des Herausgebers dieser Zeitschrift übermäßig in Anspruch zu nehmen, mich darauf beschränken, die in meiner Arbeit zusammenfassend gegebenen Werte aus jeder der Parallelbestimmungen einzeln zu berechnen und konnte das Material selbst so nicht im einzelnen bringen. Doch wird auch hier ein Urteil über die erzielten Uebereinstimmungen

1) Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens u. s. w. (Arbeiten aus der biol. Abteil. des Kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. III. 1903. Heft 5.)

2) Beiträge zur Methodik der Bodenforschung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XI. 1904. No. 8/9. p. 251.)

3) Um nachzuweisen, daß das besprochene Referat für mich noch ähnliche Ueberraschungen enthielt, folgendes: Der Herr Autor teilt in seinem Referat mit, daß die von mir benutzten Böden der chemischen und mechanischen Analyse unterworfen worden seien. In meiner Arbeit habe ich aber fast eine halbe Druckseite verwendet, um zu begründen, weshalb ich die mechanische Bodenanalyse nicht benutzt habe.

Großer Vegetationsversuch (p. 31. d. Abhandl.).

Boden	Sonderdüngung	Erste Ernte pro Gefäß		Zweite Ernte pro Gefäß		Dritte Ernte pro Gefäß	
		Trockens. g	Stickstoff g	Trockens. g	Stickstoff g	Trockens. g	Stickstoff g
Roggenfeld	keine	4,85	0,106	5,46	0,090	13,56	0,180
		5,32	0,117	5,55	0,092	13,09	0,172
		5,04	0,110	6,09	0,101	13,09	0,172
		5,50	0,121	5,01	0,083	13,09	0,172
	Eiweiß	16,02	0,416	23,78	0,716	22,70	0,269
		13,55	0,352	17,70	0,646	25,21	0,296
		12,91	0,334	25,20	0,759	20,92	0,259
	schwef. Ammon	19,54	0,451	22,18	0,763	22,18	0,246
		22,03	0,509	15,87	0,679	32,78	0,363
		21,45	0,496	23,15	0,797	19,08	0,235
	salpet. Natron	23,49	0,569	17,04	0,642	22,62	0,256
		24,83	0,601	18,10	0,682	18,98	0,241
		25,42	0,615	15,72	0,592	25,41	0,282
Kartoffelfeld	keine	11,24	0,283	5,19	0,099	16,70	0,212
		11,81	0,270	5,19	0,099	13,91	0,176
		10,96	0,250	5,19	0,099	14,38	0,182
		11,15	0,255	4,47	0,085	14,19	0,180
	Eiweiß	20,99	0,564	23,49	0,713	27,08	0,306
		22,69	0,609	25,70	0,781	28,28	0,333
		21,65	0,582	24,29	0,737	24,27	0,274
	schwef. Ammon	25,07	0,578	22,08	0,791	23,92	0,272
		24,99	0,576	20,14	0,722	29,98	0,327
		23,68	0,546	23,14	0,829	21,22	0,254
	salpet. Natron	26,21	0,655	23,23	0,738	20,63	0,244
		26,12	0,656	23,32	0,741	19,41	0,230
		26,48	0,665	22,53	0,716	20,63	0,244
Lupinenfeld	keine	5,76	0,151	4,76	0,090	11,07	0,167
		5,40	0,142	4,94	0,094	9,69	0,146
		5,76	0,151	4,40	0,084	11,07	0,167
		5,30	0,139	4,94	0,094	9,69	0,146
	Eiweiß	9,98	0,302	23,84	0,828	19,20	0,224
		13,38	0,370	23,06	0,801	20,60	0,240
		19,14	0,476	21,57	0,749	18,73	0,214
	schwef. Ammon	19,24	0,507	16,65	0,648	25,68	0,272
		18,38	0,484	19,02	0,682	21,35	0,229
		19,05	0,502	14,33	0,593	29,51	0,329
	salpet. Natron	22,59	0,599	17,08	0,633	20,99	0,264
		22,03	0,596	15,30	0,571	20,99	0,264
		22,50	0,584	17,79	0,664	19,31	0,243
Storckowfeld	keine	2,15	0,064	2,19	0,080	28,13	0,373
		1,77	0,053	2,02	0,073	31,88	0,422
		1,40	0,042	1,93	0,070	30,66	0,406
		2,05	0,061	2,81	0,102	29,06	0,385
	Eiweiß	4,10	0,217	1,22	0,055	60,74	0,858
		5,08	0,269	ist zerbrochen	ist zerbrochen	ist zerbrochen	ist zerbrochen
		3,21	0,170	2,81	0,138	53,52	0,810
	schwef. Ammon	1,96	0,084	0,88	0,044	70,22	1,072
		2,05	0,088	2,55	0,094	65,33	0,998
		1,78	0,076	0,70	0,035	69,56	1,062
	salpet. Natron	1,54	0,073	4,08	0,131	50,85	0,727
		1,63	0,078	0,00	0,000	85,32	1,361
		2,17	0,103	0,97	0,051	77,52	1,199

Großer Vegetationsversuch (p. 31 der Abhandl.)

Boden	Sonderdüngung	Erste Ernte pro Gefäß		Zweite Ernte pro Gefäß		Dritte Ernte pro Gefäß	
		Trockens. g	Stickstoff g	Trockens. g	Stickstoff g	Trockens. g	Stickstoff g
Büttgenbachfeld	keine	10,29	0,478	1,60	0,063	41,53	0,803
		6,23	0,289	1,60	0,063	26,56	0,698
		7,34	0,341	1,33	0,050	41,25	0,849
		8,36	0,388	4,77	0,094	30,46	0,496
	Eiweiß	9,17	0,405	2,52	0,090	41,06	0,846
		9,17	0,405	2,52	0,090	35,18	0,725
		8,61	0,380	3,24	0,116	36,40	0,750
	schwef. Ammon	10,18	0,512	0,88	0,031	29,63	0,804
		7,79	0,492	0,53	0,019	22,91	0,649
		6,90	0,347	1,58	0,056	29,58	0,822
	salpet. Natron	7,15	0,363	0,53	0,019	31,78	0,759
		5,50	0,280	0,36	0,013	29,91	0,715
		8,25	0,419	0,80	0,029	30,38	0,727

Ergebnisse der Untersuchungen der mit Bodenproben geimpften Peptonlösungen (p. 52 d. Abhandl.).

Zur Impfung benutzter Boden	Im Liter Peptonlösung ist enthalten		
	substituierbarer Stickstoff		Gesamtstickstoff
	nach 4 Tagen mg	nach 8 Tagen mg	nach 8 Tagen mg
Vor der Bestellung entnommen:			
ohne Impfung, blinde Lösung	13	13	1468
	13	—	1480
Roggenfeld	597	1022	1362
	651	1036	1374
	505	970	1374
Kartoffelfeld	558	1062	1335
	651	1022	1374
	770	1089	1335
Lupinenfeld	359	890	1376
	520	1022	1362
	400	890	—
Storckowfeld	159	638	—
	226	598	1377
	199	638	1368
Büttgenbachfeld	93	491	1202
	246	—	1374
	186	452	1189
Nach der ersten Ernte entnommen:			
ohne Impfung, blinde Lösung	48	36	1450
	60	36	1415
	48	72	—
Roggenfeld	380	—	1255
	332	904	1375
	320	1000	—
Kartoffelfeld	368	976	1335
	380	992	1335
	308	952	1255

Die fehlenden Zahlen erklären sich durch Verlust der betreffenden Bestimmungen.

Ergebnisse der Untersuchungen der mit Bodenproben geimpften Peptonlösungen (p. 52 d. Abhandl.).

Zur Impfung benutzter Boden	Im Liter Peptonlösung ist enthalten		
	substituierbarer Stickstoff		Gesamtstickstoff
	nach 4 Tagen mg	nach 8 Tagen mg	nach 8 Tagen mg
Nach der ersten Ernte entnommen:			
Lupinenfeld	272	916	1447
	272	940	—
	272	904	972
Storckowfeld	132	464	1255
	132	740	1230
	156	548	1360
Büttgenbachfeld	144	428	972
	132	476	—
	144	380	1032
Nach der zweiten Ernte entnommen:			
ohne Impfung, blinde Lösung	24	24	1300
	12	24	1276
	12	00	1324
Roggenfeld	448	904	—
	364	892	1204
	424	868	1252
Kartoffelfeld	424	904	1204
	448	892	1192
	376	880	1216
Lupinenfeld	328	820	1240
	328	808	1228
	328	820	1240
Storckowfeld	252	544	1264
	220	544	1240
	208	520	1192
Büttenbachfeld	108	448	940
	132	496	965
	108	460	964
Nach der dritten Ernte entnommen:			
ohne Impfung, blinde Lösung	31	16	1443
	16	46	1428
	46	46	1443
Roggenfeld	427	987	1291
	—	—	—[1]
	—	1018	1306
Kartoffelfeld	351	987	1276
	488	1002	1261
	534	1063	1276
Lupinenfeld	473	987	1291
	366	987	1291
	427	927	1291
Storckowfeld	199	805	1291
	290	941	1291
	427	1033	1276
Büttgenbachfeld	153	638	1109
	153	623	1078
	153	638	1078

Die fehlenden Zahlen erklären sich durch Verlust der betreffenden Bestimmungen.

1) Verlust der ganzen geimpften Lösung bei Gelegenheit der ersten Entnahme.

Ende der Nitratreaktion in den Giltaylösungen; Denitrifikationszeit. (p. 35 d. Abhandl.)

Boden	Entnahme der zur Impfung verwendeten Bodenprobe			
	vor der Bestellung	nach der I. Ernte	nach der II. Ernte	nach der III. Ernte
	Stunden	Stunden	Stunden	Stunden
Roggenfeld	87	81	54	70
	87	81	54	87
	87	81	54	87
Kartoffelfeld	90	81	54	91
	72	87	54	71
	66	81	54	91
Lupinenfeld	92	84	60	142
	116	81	63	91
	92	75	60	91
Storckowfeld	116	81	90	75
	116	84	90	75
	116	81	72	67
Büttgenbachfeld	116	94	70	93
	116	94	70	91
	116	94	90	162

Die blinden Bestimmungen zeigen sich dauernd von stärkster Reaktion.

(Die Durchschnitte dieser Zahlen ergeben teilweise geringe Abweichungen gegen die in der Originalarbeit angegebenen Werte, was sich durch die Art der Berechnung erklärt. Denn in der Originalarbeit wurde zunächst der Durchschnitt der Reaktionsstärken festgestellt und daraus die Stundenzahl berechnet, während hier die Stundenzahl natürlich, um die Abweichungen der Parallelbestimmungen hervortreten zu lassen, aus den einzelnen Reaktionsstärken berechnet wurde.)

Es war in der Omelianskylösung Nitrit verschwunden nach 16 Tagen pro Tag und Liter in Milligramm (p. 47 der Abhandl.).

Boden	Entnahme der zur Impfung verwendeten Bodenprobe			
	vor der Bestellung	nach der I. Ernte	nach der II. Ernte	nach der III. Ernte
Roggenfeld	53,15	43,75	31,25	31,25
	40,63	43,75	31,25	31,25
	40,63	43,75	31,25	31,25
Kartoffelfeld	53,15	58,78	38,75	31,25
	53,15	47,50	37,50	34,38
	61,88	56,75	43,75	31,25
Lupinenfeld	40,63	43,75	25,00	34,38
	37,50	37,50	31,25	34,38
	37,50	18,75	31,25	34,38
Storckowfeld	9,38	6,25	6,25	31,25
	9,38	3,13	18,75	31,25
	6,25	6,25	25,00	31,25
Büttgenbachfeld	31,25	6,25	9,58	18,75
	31,25	3,13	18,75	25,00
	31,25	6,25	6,25	25,00

Höchste Nitritbildung pro Tag und Liter in Milligramm
(p. 45 d. Abhandl.)

Boden	Entnahme der zur Impfung verwendeten Bodenprobe			
	vor der Bestellung	nach der I. Ernte	nach der II. Ernte	nach der III. Ernte
Roggenfeld	15,63	1,66	12,50	1,78
	6,25	4,17	15,63	8,93
	14,06	2,08	9,38	7,14
Kartoffelfeld	0,38	10,42	7,50	5,36
	2,00	2,08	5,42	2,14
	3,78	4,17	5,42	1,78
Lupinenfeld	6,25	0,50	4,69	0,63
	1,25	0,50	0,31	2,52
	0,63	0,50	0,31	0,63
Storckowfeld	0,38	1,00	3,75	14,28
	0,16	0,63	0,31	5,36
	0,69	0,63	0,03	7,14
Büttgenbachfeld	0,75	0,00	7,81	6,25
	2,50	0,37	0,31	0,89
	12,50	0,13	3,13	1,79

möglich sein. Die Berechnungsweise ist natürlich die gleiche gewesen, wie für die in meiner Arbeit wiedergegebenen Werte.

Es wird sich bei näherer Betrachtung zeigen, daß den von mir benutzten Methoden wohl noch Fehler anhaften, was ich auch nie in Abrede gestellt habe, daß sie aber immerhin ein gewisses Recht haben dürften, neben anderen, derzeitig benutzten Forschungsmethoden der Bodenbakteriologie ihren Platz zu behaupten. Nur die Werte für die Nitritbildung ergeben, worauf ich aber bereits in meiner Arbeit hinwies, das Resultat, daß hier die Methode noch unbrauchbar ist.

Zum Schluß sei mir gestattet, darauf hinzuweisen, daß meine in dem betreffenden Referat ebenfalls getadelten Angriffe gegen einen „älteren Forscher“ bis heute, also in nahezu Jahresfrist, noch keine sachliche Zurückweisung erfahren haben. (Siehe vorhergehende Tabellen p. 304 u. s. w.)

Rubiaceen bewohnende Puccinien vom Typus der Puccinia Galii.

Von **Theophil Wurth,** Bern.

Mit 14 Figuren.

(Schluß.)

Bemerkenswert bei der Gruppe der Puccinia Galii ist die Sporenfolge. Während beim normalen Entwickelungsgang der Uredineen am Pyknidenmycel Aecidien entstehen und erst die Aecidiosporen das Mycel der Uredosporen hervorrufen, können bei unseren Formen (Puccinia Galii, P. Galii silvatici, P. Asperulae odoratae) Uredosporen direkt am Pyknidenmycel entstehen. Für die Erhaltung des Pilzes sind also die Aecidien nicht mehr unbedingt notwendig. Wie nun bei Parasiten überhaupt eine Tendenz zu Reduktion herrscht, so ist auch für die Gruppe der Puccinia Galii wahrscheinlich, daß die Aecidien einmal ganz verschwinden werden, d. h. daß diese Auteupuccinien sich in Brachyformen umwandeln. Bei Puccinia Celakovskyana hat sich diese Reduktion bereits vollzogen.

Auch auf den Vorgang der Spezialisation werfen unsere Versuche einiges Licht. In Versuchsreihe 6 haben wir gesehen, wie Puccinia Galii wohl noch im stande ist, auf Galium silvaticum Aecidien und Uredo zu bilden, aber keine Teleutosporen mehr. Auf Galium Aparine brachte der gleiche Pilz nur noch Pykniden hervor. Wir hätten uns also den Gang der Spezialisation so vorzustellen, daß der Pilz zuerst die Fähigkeit verliert, auf anderen Nährpflanzen Teleutosporen zu bilden, später verschwinden Aecidien und Uredo und endlich auch die Pykniden.

II. Kapitel. Morphologische Untersuchung.

Zum Typus der Puccinia Galii rechnen wir alle diejenigen Formen, welche früher unter dem Namen Puccinia Galii auct. zusammengefaßt wurden, also z. B. auch Puccinia Celakovskyana. Von diesem Typus lassen sich die übrigen Galium und Asperula bewohnenden Puccinien leicht unterscheiden:

1) Puccinia chondroderma durch den Ring, den die beiden Teleutosporenzellen tragen,

2) Puccinia troglodytes durch die bedeutend kleineren Teleutosporen,

durch das Fehlen der Uredogeneration weichen von Puccinia Galii ab,

3) Puccinia ambigua, P. Valantiae, P. rubefaciens, P. pallidefaciens, P. Lagerheimii.

4) Puccinia Asperulina unterscheidet sich durch das üppige Auftreten der Aecidiengeneration, sowie durch die starke Deformation der Nährpflanze,

5) Puccinia spilogena durch das Fehlen der Pykniden und Aecidien,

6) Puccinia helvetica durch kleinere Teleutosporen und durch den Mangel an Pykniden und Aecidien.

Für die genauere Beschreibung dieser Formen muß auf die Monographie der Uredineen von Sydow verwiesen werden, der auch die obigen Angaben entnommen sind.

Nachdem im I. Kapitel einige Formen aus der Gruppe der Puccinia Galii auf ihr biologisches Verhalten hin geprüft worden sind, sollen sie im folgenden auch morphologisch untersucht werden.

I. Puccinia Celakovskyana Bubák.

Zwar hat schon Bubák[1]) von dieser Form eine Diagnose gegeben, da aber unsere Untersuchungen diese in einigen Punkten ergänzt, erscheint es uns gerechtfertigt, hier eine Beschreibung des Pilzes folgen zu lassen:

Pykniden amphigen, kugelig, im Blattgewebe eingesenkt oder oft

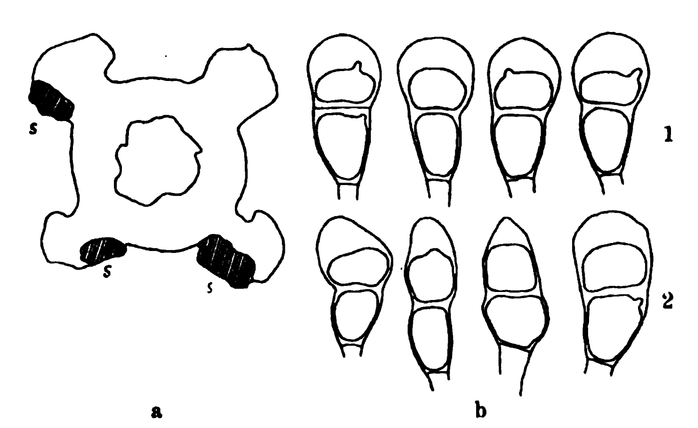


Fig. 2. Puccinia Celakovskyana. a) Querschnitt durch einen Stengel von Galium Cruciata. Die Teleutosporenlager (s) bilden sich seitlich am Kantenwulst. b) Teleutosporen, 1. typische, 2. häufig vorkommende, vom normalen Typus abweichende Formen.

bis zur Hälfte über die Blattoberfläche hervorragend, honigfarben. 105—165 μ Durchmesser. Mündungshyphen hyalin, frei, bis 52 μ lang.

Die primären Uredolager am Pyknidenmycel entstehend, lange bedeckt, später von der zerrissenen Epidermis umgeben, zu Gruppen vereinigt. Blattfläche ringsum gelblich gefärbt. Sekundäre Uredolager amphigen, früh nackt, zerstreut, hellkastanienbraun. Uredosporen kugelig, ellipsoidisch oder birnförmig, gleichmäßig mit feinen Stacheln besetzt, hellbraun. Die zwei schwach quellbaren Keimporen äquatorial angeordnet. 21—30 μ : 18—25 μ.

Teleutosporen auf der Unterseite der Blätter in zerstreuten, ovalen oder kreisförmigen Häufchen, schwarzbraun; am Stengel strichförmig bis 1 cm lang, gewöhnlich an der Innenseite des Kantenwulstes her-

1) Bubák, l. c.

vorbrechend (Fig. 2a). Teleutosporen eiförmig, seltener am Scheitel gestutzt oder zugespitzt, an der Basis in den Stiel verschmälert. Membran der oberen Zelle am Scheitel stark verdickt (im Mittel 10 μ). Keimporus der oberen Zelle scheitelständig oder nach der Seite gerückt, derjenige

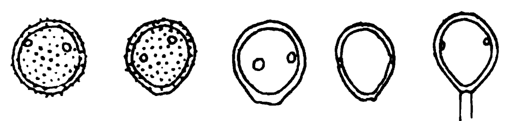


Fig. 3. Puccinia Celakovskyana. Uredosporen.

der Basalzelle an der Verwachsungsstelle der beiden Zellen gelegen. Sporen glatt, in der Mitte schwach eingeschnürt, kastanienbraun, 35—56 μ : 17—25 μ.

II. Puccinia Galii auct.

Im I. Teil dieser Arbeit wurde nachgewiesen, daß sich die Formen auf Galium silvaticum, Asperula odorata und Asperula cynanchica biologisch anders verhalten als die Form auf Galium Mollugo und G. verum. Da auch morphologische Unterschiede vorliegen, sind jene als selbständige Arten von dieser auseinanderzuhalten. Für die Form auf Galium Mollugo und verum sei die Bezeichnung Puccinia Galii beibehalten. Was also im nachfolgenden von Puccinia Galii handelt, bezieht sich nur auf den Pilz auf Galium Mollugo und verum. Es ist wahrscheinlich, daß weitere Untersuchungen den Kreis der Nährpflanzen erweitern.

Diagnose: Pykniden amphigen, kugelig, wenig oder nicht über die Blattoberfläche hervorragend, orangefarben, 87—105 μ im Durchmesser. Aecidien

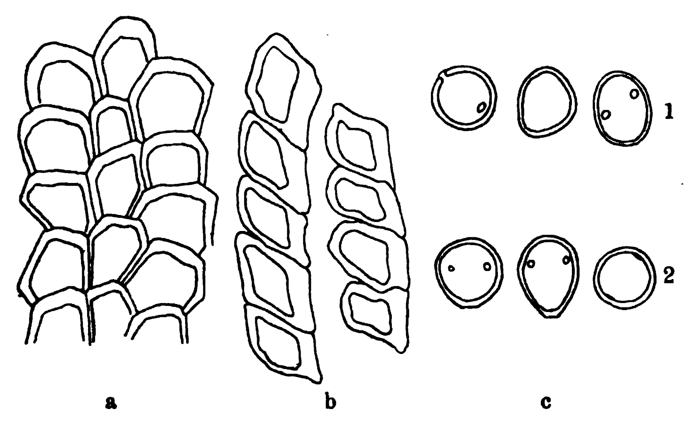


Fig. 4. Puccinia Galii auf Galium Mollugo. a) Peridie von der Fläche gesehen, b) im radialen Längsschnitt. c) Uredosporen 1. auf Galium verum, 2. auf Galium Mollugo. Skulptur nicht eingetragen.

auf der Unterseite der Blätter zu Gruppen vereinigt, Blattfläche ringsum heller gefärbt. Peridie becherförmig, mit wenig hervorragendem, fein zerschlitztem Rand. Peridienzellen in deutlichen Reihen angeordnet, in

der Flächenansicht unregelmäßig 6-eckig, auf der Außenseite etwas übereinandergreifend. Höhe der Peridienzelle (im Längsschnitt) 17—22 μ, Tiefe 17—21 μ, Innenwand 3 μ, Außenwand 7 μ dick. Aecidiosporen in Reihen entstehend, rundlich oval bis stumpf polyëdrisch, mit dünner, farbloser, sehr feinwarziger Membran, Durchmesser 14—21 μ (Mittel 13 μ).

Uredolager am Stengel Striche oder große Flecken von 1 cm Länge und 3—4 mm Breite bildend, auf der Blattunterseite rundliche bis 2 mm breite Häufchen; vor dem Aufbrechen meist orange gefärbt. Lager oft von hellem, kreisrundem Hof umgeben, hell bis dunkel kastanienbraun. Uredosporen kugelig, ellipsoidisch oder birnförmig, mit brauner, feinstachliger Membran; die beiden Keimporen äquatorial angeordnet, mit wenig quellbarem Epispor, 14—21 μ : 18—25 μ.

Teleutosporenlager am Stengel immer strichförmig, oft zusammenfließend zu Lagern von mehreren Centimetern Länge, selten über 1 mm breit, auf der Blattunterseite in rundlichen kleinen Häufchen, 0,5—2 mm breit, zerstreut oder in Gruppen, schwarzbraun, fest. Teleutosporen ellipsoidisch, birnförmig, selten abgestutzt, in den Stiel verschmälert, in der Mitte etwas eingeschnürt. Membran der oberen Zelle am Scheitel stark verdickt, 9—14 μ. Der Keimporus der oberen Zelle scheitelständig oder etwas nach der Seite gerückt, derjenige der Basalzelle hart an der Scheidewand gelegen. Membran hell- bis dunkelbraun, glatt. 17—25 : 42—56 μ.

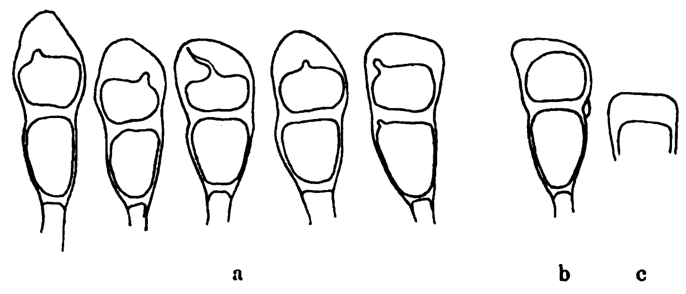


Fig. 5. Puccinia Galii. Teleutosporen auf Galium Mollugo. c) Gleiche Spore wie bei b, aber um 90° um die Längsachse gedreht.

In den Uredosporen zeigt sich zwischen Puccinia Galii und Puccinia Celakovskyana kein wesentlicher Unterschied. Für die Teleutosporen der ersteren fand ich eine mittlere Länge von 49 μ, für die der anderen eine solche von 44 μ. Als wichtigstes Unterscheidungsmerkmal dieser beiden Formen aber muß außer ihrer Spezialisation das Fehlen der Aecidiengeneration bei Puccinia Celakovskyana gelten.

III. Puccinia Galii silvatici Otth in herb.

Ueber diese neue Art scheint Otth nichts publiziert zu haben. Dagegen fand ich in seinem Herbarium eine handschriftliche Notiz, in der er von unserem Pilz folgende Diagnose gibt: Hypophylla, passimque caulina. Caespituli minuti, nigri, rotundi, caulinive breviter lineares; sporangia clavata aut pyriformia, ad septum constricta; episporio in vertice valde incrassato, saturatissime spadiceo, totius articuli superioris

dimidiam partem formante, subtruncato, late rotundato, sporangio circiter dimidio breviore.

Obwohl diese Beschreibung die Verhältnisse der Teleutosporen trefflich wiedergibt, müssen doch heute bei der Charakterisierung einer Art auch die übrigen Sporenformen eingehend berücksichtigt werden und die erweiterte Diagnose dieses Pilzes kann ungefähr folgendermaßen gegeben werden:

Pykniden amphigen, kugelig, seltener ellipsoidisch, oft bis $^1/_3$ über die Blattoberfläche hervorragend, organge-gelblich, 125—175 μ im Durchmesser. Mündungshyphen hyalin, hervortretend, frei, bis 60 μ lang.

Aecidien auf blaßgelben Flecken auf der Unterseite der Blätter, seltener am Stengel, in Gruppen oder kreisförmig angeordnet. Peridie becherförmig, mit weißem, zurückgebogenem, zerschlitztem Rand. Peridienzellen in Reihen angeordnet, in der Flächenansicht unregelmäßig 6-eckig; auf der Außenseite unten etwas übereinandergreifend. Höhe

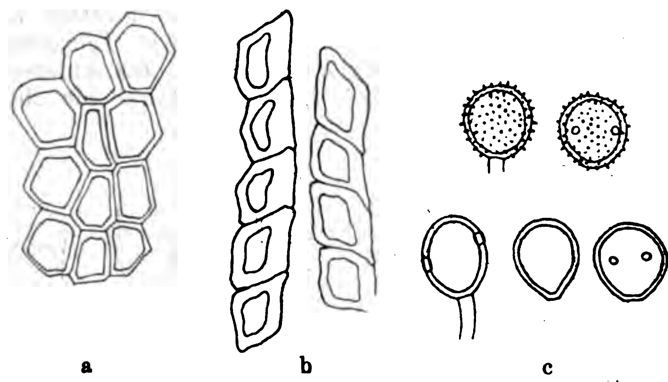


Fig. 6. Puccinia Galii silvatici Otth auf Galium silvaticum. a) Peridie von der Fläche gesehen, b) im radialen Längsschnitt, c) Uredosporen.

der Peridienzelle (im Längsschnitt) 14—21 μ. Außenwand 6—8 μ dick, feinwarzig, Innenwand 3—4 μ dick, grobwarzig. Aecidiosporen in deutlichen Reihen entstehend, rundlich, oval bis polyëdrisch, mit dünner, farbloser, sehr feinwarziger Membran, 17—21 μ.

Uredolager meist blattunterseits, zerstreut oder zu Gruppen vereinigt, rundlich, früh nackt, kastanienbraun. Uredosporen kugelig, selten ellipsoidisch oder birnförmig, mit gelblich-brauner bis dunkelbrauner, gleichmäßig ausgebildeter und stachliger Membran. Die beiden Keimporen meist äquatorial angeordnet mit quellbarem Epispor. Stiel hyalin, 45—53 μ lang, 3—5 μ breit. Maße: 17—21 : 21—24 μ.

Teleutosporenlager auf der Blattunterseite, rundlich, zerstreut oder in Gruppen, oft kreisförmig angeordnet, am Stengel strichförmig, oft mehrere Millimeter lang, schwarz; am Rande von der Epidermis bedeckt, fest. Teleutosporen ellipsoidisch, birnförmig, oft keilförmig, nach unten in den Stiel verschmälert, in der Mitte schwach eingeschnürt. Membran am Scheitel stark verdickt, Kappe 9—14 μ dick, abgestutzt oder gerundet. Keimporus der oberen Zelle scheitelständig oder seitlich, derjenige der Basalzelle hart an der Scheidewand gelegen. Membran an

den verdickten Stellen dunkelkastanienbraun, glatt. Stiel schwachbräunlich. Maße: 17—24 : 37—45 μ.

Von Puccinia Galii ist diese Form in erster Linie durch ihr biologisches Verhalten verschieden. Dann aber sind auch einige kon-

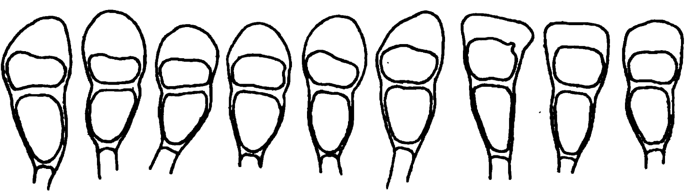


Fig. 7. Puccinia Galii silvatici Otth auf Galium silvaticum. Teleutosporen.

stante morphologische Unterschiede vorhanden: 1) die Teleutosporen von Puccinia Galii silvatici Otth sind kleiner als diejenigen von Puccinia Galii auct. Für jene fand ich eine mittlere Länge von 41 μ, für diese eine solche von 49 μ. 2) Die Teleutosporen auf Galium silvaticum sind dunkler gefärbt als alle anderen hier-besprochenen Formen. 3) finden sich bei dieser Form die abgestutzten,

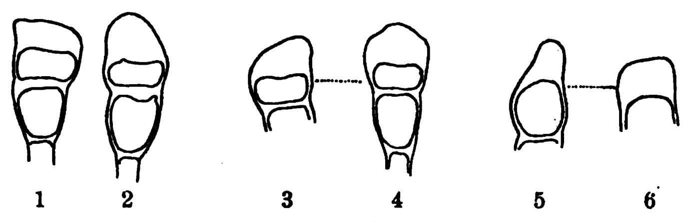


Fig. 8. Puccinia Galii silvatici Otth. Teleutosporen. Spore 1 zeigt bei jeder Lage einen abgestutzten, Spore 2 einen gerundeten Scheitel. Spore 3 zeigt bei einer Drehung von 90° die Ansicht 4. Dasselbe gilt von 5 und 6.

keilförmigen Sporen viel häufiger als bei Puccinia Galii auct. 4) Die Peridienzellen sind durchschnittlich etwas kleiner als bei der Form auf Galium Mollugo (vergl. Fig. 4b u. Fig. 6b).

IV. Puccinia Asperulae odoratae n. sp.

In seinen Symbolae mycologicae gibt Fuckel dem Pilz auf Asperula odorata den Namen Puccinia Asperulae und bemerkt dazu: „an den Blättern von Asperula odorata und A. cynanchica, selten; Aecidien unbekannt.“ Eine Diagnose oder weitere Daten scheinen nicht vorzuliegen. Spätere Autoren zogen diese Form wieder zu Puccinia Galii auct. und auch Sydow[1]) sagt, daß morphologische Unterschiede hier nicht vorliegen. Vielleicht könne aber die Fuckelsche Form aufrecht erhalten bleiben, wenn durch Kulturversuche eine Spezialisation nachzuweisen sei. Im ersten Kapitel unserer Arbeit haben wir diesen Nachweis geleistet und die nachfolgende Beschreibung wird zeigen,

1) Sydow, l. c.

daß **Puccinia Asperulae adoratae** auch morphologisch von den anderen Formen abweicht.

Pykniden?

Aecidien auf der Unterseite der Blätter zu kleinen Gruppen vereinigt, das umgebende Blattgewebe heller gefärbt. Peridie becherförmig, mit wenig hervortretendem weißen Rand. Peridienzellen, von der Fläche gesehen, in Reihen angeordnet, unregelmäßig 6-eckig. Auf der Außenseite wenig übereinandergreifend. Höhe der Peridienzelle (im Längs-

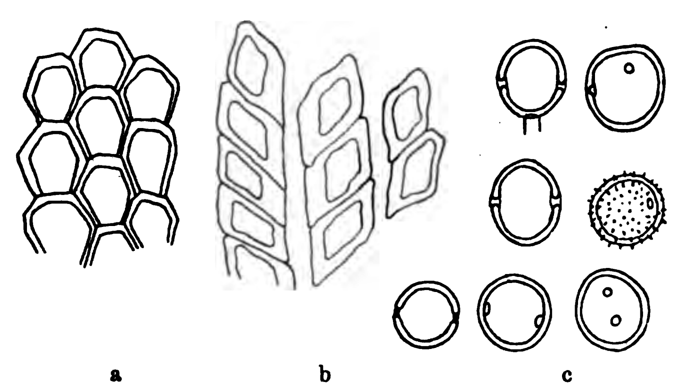


Fig. 9. **Puccinia Asperulae odoratae** Wurth. a) Peridie von der Fläche gesehen, b) im radialen Längsschnitt, c) Uredosporen.

schnitt) 14—24 μ. Außenwand 6—8 μ. Innenwand 3 μ. Aecidiosporen in deutlichen Reihen entstehend, oval, rundlich bis stumpf polyëdrisch, mit dünner, farbloser, feinwarziger Membran, 14—21 μ.

Uredolager meist blattunterseits, in zerstreuten, früh nackten, sehr kleinen Häufchen, am Stengel strichförmig, hell schokoladebraun. Uredosporen kugelig, ellipsoidisch, birnförmig, mit brauner, feinstacheliger Membran. Die beiden Keimporen meist äquatorial angeordnet mit quellbarem Epispor. 18—30 μ.

Teleutosporenlager auf der Blattunterseite in zerstreuten, kleinen, rundlichen oder ovalen Häufchen, seltener in Gruppen angeordnet, hellschokoladebraun, lange von der zerrissenen Epidermis bedeckt, am Stengel strichförmig. Teleutosporen ellipsoidisch, birn- oder keulenförmig, mit deutlicher Einschnürung, nach unten in den Stiel verschmälert. Membran am Scheitel verdickt. Dicke der Kappe etwa gleich der Hälfte des Lumens der oberen Zelle, 7 μ dick, nach oben hin hellgelbbraun werdend, unten dunkler. Keimporus der oberen Zelle meist scheitelständig, der der Basalzelle hart an der Scheidewand gelegen. Membran an den verdickten Stellen hellbraun, glatt, 17—21 : 30—52 μ.

Von allen bisher besprochenen Formen ist dieser Pilz leicht zu unterscheiden. Die Scheitelverdickung der Membran beträgt durchschnittlich nur die Hälfte des oberen Zelllumens (im Mittel 7 μ), während bei den früher beschriebenen Arten die Kappe den Durchmesser des Lumens der Scheitelzelle besitzt (im Mittel 10 μ). Die hellbraune, nach oben allmählich abnehmende Färbung des Teleutosporenscheitels

ist ein weiteres Unterscheidungsmerkmal. Auch sind bei Puccinia Asperulae odoratae die seitlichen Wandungen der oberen Zelle (im optischen Durchschnitt) stärker gebogen als die der unteren Zelle. Bei den drei oben beschriebenen Galium bewohnenden Puccinien läßt sich ein konstanter Unterschied in dieser Richtung nicht nachweisen.

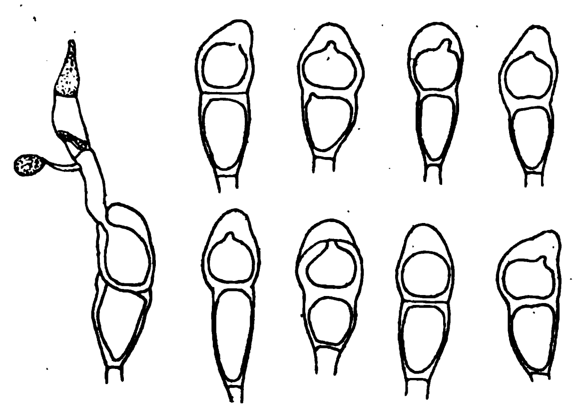


Fig. 10. Pucciniae Asperulae odoratae Wurth. Teleutosporen.

Ferner ist bei diesen Formen die Basalzelle deutlich dünnwandiger als diejenige von Puccinia Asperulae odoratae. In den Uredosporen herrscht große Uebereinstimmung. Bezüglich der Aecidien wage ich keine Schlüsse zu ziehen, da mir bei der mikroskopischen Untersuchung zu wenig Material auf Asperula odorata vorlag. Vielleicht ist letzterer Umstand auch schuld daran, daß ich keine Pykniden fand. Unzweifelhaft sind aber solche vorhanden.

V. Puccinia Asperulae cynanchicae n. sp.

Pykniden am Stengel oder an den Blättern entstehend, kugelig bis birnförmig, im Gewebe eingesenkt oder wenig hervorragend, honigfarben, 150—240 μ. Mündungshyphen wenig hervortretend, hyalin, verklebt.

Aecidien blattunter- und oberseits oder am Stengel entstehend, umgebendes Blattgewebe oft karminrot gefärbt. Peridie becherförmig, mit weißem, wenig hervortretendem Rand. Peridienzellen in deutlichen Reihen angeordnet, in der Flächenansicht unregelmäßig 6-eckig. Höhe der Peridienzelle (im Längsschnitt) 14—17 μ, Breite 14—28 μ, Außenwand 6—9 μ, Innenwand 4—7 μ. Aecidiensporen in deutlichen Reihen entstehend, rundlich, oval bis stumpf polyëdrisch, mit dünner, farbloser, feinwarziger Membran.

Uredolager am Stengel, blattober- und unterseits, vereinzelt, früh nackt, rundlich, fast immer von einem Hof abgeworfener Sporen umgeben, hellbraun. Uredosporen kugelig, birnförmig oder stumpf polyëdrisch. Membran braun, feinstachelig. Die beiden Keimporen meist äquatorial angeordnet, mit quellbarem Epispor. 19—24 : 24—31 μ.

Teleutosporenlager am Stengel, blattober- und unterseits entstehend, in festen, ovalen, schwarzen Häufchen, am Rande von der Epidermis bedeckt. Teleutosporen ellipsoidisch, keulen- oder birnförmig, nach

unten in den Stiel verschmälert, in der Mitte etwas eingeschnürt. Membran am Scheitel stark verdickt, 8—14 μ. Keimporus der oberen Zelle scheitelständig oder nach der Seite gerückt, der der Basalzelle hart an der Scheidewand gelegen. Membran glatt, an den verdickten Stellen kastanienbraun. 17—25 μ : 42—56 μ.

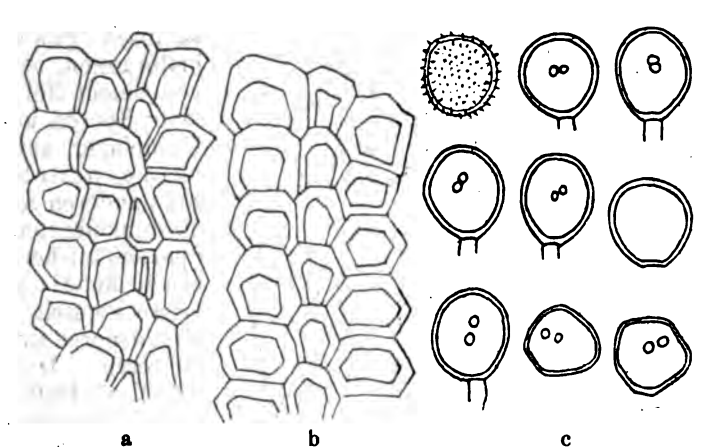


Fig. 11. Puccinia Asperulae cynanchicae Wurth. a) Peridie, von der Fläche gesehen. b) Uredosporen.

Gegenüber Puccinia Asperulae odoratae zeigt dieser Pilz deutliche morphologische Unterschiede. 1) Seine Teleutosporen sind etwas größer und besitzen eine gleichmäßig gefärbte, dunkelbraune Scheitelverdickung. 2) Die seitlichen Wandungen der oberen Zelle zeigen im optischen Durchschnitt nicht jene starke Ausbuchtung. 3) Die Peridienzellen sind in der Flächenansicht bedeutend dickwandiger. Letzteres Merkmal, wie auch die bedeutende Mächtigkeit der inneren Wand der Peridienzellen (im Längsschnitt) können als Unterscheidungsmerkmal gegenüber den früher beschriebenen Galium bewohnenden Puccinien gelten. Immerhin wäre es möglich, daß Standortsverhältnisse diese Schwankungen in der Dicke der Peridienzellen bedingen, wie das Majus[1]) für gewisse Arten nachgewiesen hat. In unserem Falle jedoch scheint dies nicht zuzutreffen; wir haben es hier jedenfalls mit einem Artmerkmal zu tun. So muß jedenfalls auch die in den Alpen auf Galium silvestre

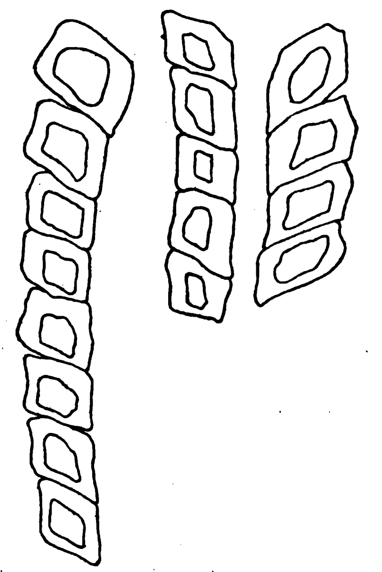


Fig. 12. Puccinia Asperulae cynanchicae Wurth. Peridie in radialem Längsschnitt.

1) Majus, O., Die Peridienzellen der Uredineen in ihrer Abhängigkeit von Standortsverhältnissen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. X. 1903.)

vorkommende Form auf Grund der stark verdickten Peridienzellen von Puccinia Galii auct. als selbständige Form abgetrennt werden [1]. Große Aehnlichkeit haben die Teleutosporen von Puccinia Asperulae cynanchicae mit denjenigen von Puccinia Galii auf Galium Mollugo. Von letzterer Form unterscheidet er sich durch den Uredo. Schon makroskopisch gewähren die hellbraunen, stäubenden, von einem Hof abgeworfener Sporen umgebenen Uredolager auf Asperula cynanchica einen ganz anderen Anblick als die dunkelbraunen, festen Sporenhäufchen auf Galium Mollugo. Und mikroskopisch sind die Uredosporen durch ihren größeren Durchmesser und ihre birnförmige, oft stumpf polygonale Gestalt gegenüber der Form auf Galium Mollugo wohlcharakterisiert.

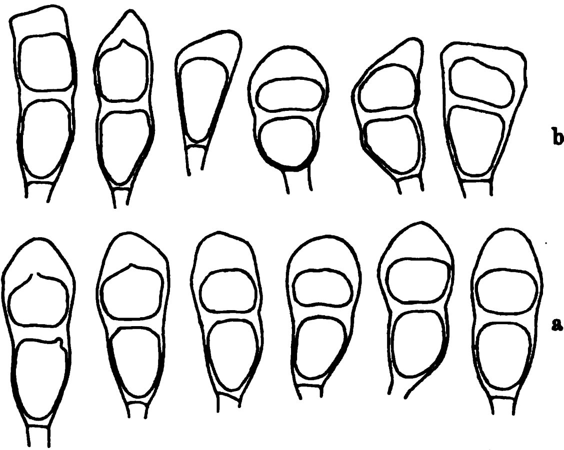


Fig. 13. Puccinia Asperulae cynanchicae Wurth. a) Typische Form. b) Häufig vorkommende, vom normalen Typus abweichende Formen.

Anhang.

Aecidium Molluginis n. sp.

Durch die Versuche VII und VIII, sowie durch mehrere andere, bei denen ebenfalls Aecidiosporen verwendet wurden, suchte ich mir eine Beobachtung zu erklären, die ich vergangenes Jahr in der Umgebung von Chur gemacht hatte. Noch Mitte Oktober fand ich nämlich an der „Halde“ oberhalb der Stadt, wie auch noch an zwei anderen Stellen in der Nähe von Felsberg (Graubünden) auf Galium Mollugo zahlreiche, schön entwickelte Aecidien. Es lag zunächst die Vermutung nahe, daß es sich hier um eine Aecidienwiederholung der Puccinia Galii handle. Um diese Frage experimentell zu prüfen, machte ich Versuche mit primären Aecidien der Puccinia Galii aus der Umgebung von Bern und auch mit Aecidienmaterial, das im August bei Felsberg gesammelt wurde. Aber niemals ließ sich eine Aecidienwiederholung nachweisen.

Diese Aecidien könnten aber auch entstanden sein durch keimende Teleutosporen der Puccinia Galii, sofern die Keimkraft der Teleutosporen im Frühjahr nicht erlischt, sondern bis in den Herbst hinein erhalten bleibt. Die mikroskopische Untersuchung der Aecidien tragenden Blätter hatte zudem die Anwesenheit von Pykniden ergeben. Ein Keimungsversuch mit Teleutosporen von Puccinia Galii (gesammelt im Oktober 1903, eingeleitet Anfang Oktober 1904) blieb indessen erfolglos. Verschiedene Beobachtungen sprachen ebenfalls gegen die Richtig-

1) Fischer, Ed., Die Uredineen der Schweiz. 1904. Fig. 243.

keit dieser Anschauung. So beobachtete ich in der Umgebung von Bern, Chur und anderen Orten vom Frühjahr bis in den Herbst stark infizierte Pflanzen von Galium Mollugo, die kein einziges Aecidium trugen.

Es wäre daher auch denkbar, daß diese Aecidien gar nicht zu Puccinia Galii gehörten. Bubák[1]) schreibt darüber: „Aus bestimmten Gründen habe ich schon vor längerer Zeit den Verdacht geschöpft, daß zu Puccinia Baryi ein Galium-Aecidium gehört. Ich habe deshalb überwinterte Teleutosporen am 21. Mai auf folgende Pflanzen gebracht: Galium verum, Mollugo; Geranium pratense, pusillum, molle, pyrenaicum, dissectum, columbinum, silvaticum, phaeum und Plantago lanceolata. Alle Versuchspflanzen blieben pilzfrei." Da mir reichliches Aecidienmaterial, das ich bei Felsberg gesammelt hatte, zur Verfügung stand, suchte ich die Frage in dieser Richtung ebenfalls zu prüfen. Am 5. Oktober 1904 wurden im botanischen Institut Bern mit Aecidiosporen infiziert: 3 Galium Mollugo, 1 Galium silvaticum, 2 Brachypodium pinnatum, 2 Brachypodium silvaticum. Am 5. November waren noch alle Pflanzen pilzfrei. Auch dieser Versuch stimmt mit den früher gewonnenen Resultaten überein.

Wir kommen daher zu dem Schlusse, daß hier eine heterözische Art vorliegt. Zwei Gründe besonders bestätigen diese Ansicht. Einmal

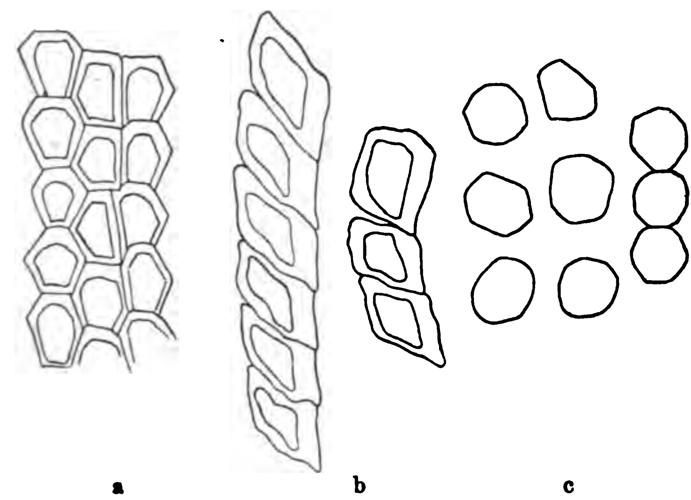


Fig. 14. Aecidium Molluginis Wurth. a) Peridie, von der Fläche gesehen. b) Im radialen Längsschnitt. c) Aecidiosporen.

ist es mir nie gelungen, durch diese Aecidiosporen auf Galium Mollugo eine Infektion hervorzurufen und dann konnte ich verschiedene stark infizierte Galium Mollugo vom Mai bis in den November hinein beobachten, die nie eine Spur von Aecidien aufwiesen.

Ich bezeichne daher diese Form als Aecidium Molluginis und die morphologische Beschreibung desselben lautet:

---

1) Bubák, l. c.

Pykniden kugelig, nur wenig über die Gewebeoberfläche hervorragend, honigfarben, 123 : 133 μ. Mündungshyphen hyalin, hervortretend, frei, bis 70 μ lang. Aecidien auf blaßgelben Flecken, auf der Unterseite der Blätter in Gruppen geordnet. Peridie becherförmig, mit weißem, hervortretendem, zurückgebogenem, zerschlitztem Rand. Peridienzellen in Reihen geordnet, in der Flächenansicht unregelmäßig 6-eckig. Höhe der Peridienzelle (im Längsschnitt) 17—21 μ, Breite 24 μ, äußere Wand 7—8 μ, innere Wand 3—4 μ. Aecidiosporen in deutlichen Reihen entstehend, rundlich bis stumpf polyëdrisch, mit dünner, farbloser, sehr feinwarziger Membran, 17—24 μ (im Mittel 17 μ).

Zu der Beschreibung der Pykniden muß noch bemerkt werden, daß sie an Hand einer einzigen Pyknide gewonnen wurde, da ich unter mehr als 60 Schnitten nur eine einzige solche fand.

Wesentliche morphologische Unterschiede zwischen diesem Aecidium und demjenigen der Puccinia Galii scheinen also nicht vorzuliegen.

Weiteren Beobachtungen und Versuchen bleibt es vorbehalten, den zugehörigen Teleutosporenwirt zu finden.

Corrigendum.

In dem ersten Teil der Arbeit von J. Stoklasa und E. Vítek in No. 3/4, dieses Bandes Seite 104, Abs. 2 ist trotz wiederholter, sorgfältiger Korrektur ein sinnstörender, wenn auch durch die Note 1 auf derselben Seite außer Zweifel gestellter, bei der Uebertragung des Konzepts in Reinschrift unterlaufener Fehler stehen geblieben. Es soll nämlich richtig heißen: „Es befindet sich daher in der Lösung von den kohlenstoffhaltigen Nährmedien (statt außer den kohlenstoffhaltigen Nährmedien) immer nur eine von den angeführten Säuren oder Kohlenhydraten vor", was, wie schon bemerkt, aus der Fußnote 1 auf derselben Seite ganz unzweideutig und klar hervorgeht.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter,** Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 50, Schaperstr. 2/3

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XIV. Bd. — **Jena,** den 6. April 1905. — **No. 11.**

Inseratenannahme durch Max Gelsdorf, Leipzig-Gohlis. — Buchhändleranzeigen durch die Verlagshandlung erbeten.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 11.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Technisch-bakteriologische Versuche in der Emmentalerkäserei [1]).

[Aus dem bakteriol. Laboratorium der Molkereischule Rütti-Bern.]

Von **A. Peter.**

Meine Untersuchungen hatten, den Zweck über zwei Fragen, die in der Käsereitechnik ein unmittelbares Interesse beanspruchen, etwas mehr Klarheit zu schaffen:

1. Ueber den Verlauf der Säurebildung in der frischen Käsemasse und den Einfluß derselben auf das Verhalten der Käse auf der Presse und in der Hauptgärung.

In der Emmentalerkäserei wird bekanntlich die ganze Bruchmasse aus der 50—53° C warmen Molke herausgefischt und zu einem Laib von 100 und mehr kg Gewicht gepreßt. Während den ersten 6 bis 10 Stunden dieser Pressung fließt nun beständig Molke ab, deren Säuregrad zum Säuregehalt der frischen Käsemasse in direkter Beziehung stehen muß. Fängt man die Molke unter Beobachtung gewisser Kautelen auf, so kann man an der Hand zahlreicher Untersuchungen zu interessanten Schlüssen über den Verlauf der Säurebildung in der frischen Käsemasse gelangen.

Die von mir bei einer Anzahl nacheinander fabrizierten Käse gefundenen Resultate ergaben z. B.:

Datum der Fabrikation	Säuregrad der abgepreßten Molken			Ausfall der Käse nach der Hauptgärung
	beim Ausziehen	nach 2 bis 2½ St.	n. 5—6 St.	
Juli 9.	4,0	19,0	46,0	erste Qualität
„ 9.	4,1	12,2	36,0	Gläsler mit Glanzloch
„ 10.	4,0	13,5	26,0	„ „ „
„ 11.	4,0	23,0	51,0	erste Qualität
„ 11.	4,0	16,5	46,0	„ „
„ 12.	4,0	22,0	54,0	„ „
„ 13.	4,0	19,0	48,5	„ „
„ 14.	4,0	22,5	50,0	„ „
„ 14.	4,0	14,0	42,5	„ „
„ 15.	4,0	23,0	56,0	„ „ etwas kurzer Teig
„ 16.	4,0	20,0	42,0	„ „
Durchschnitt	4,0	16,6	45,3	9 erste Qualität, 2 Ausschuß

1) Landw. Jahrbuch der Schweiz, 1905.

Die Säuregrade sind nach Soxhlet-Henkel bestimmt ($\frac{N}{4}$lauge : 100) Weitere, allerdings nicht mehr ausschließlich durch mich selbst ausgeführte Bestimmungen ergaben:

	Nach 2–2½ St.	Nach 5–6 St.
Bei 17 Käsen vom Monat August	12,31 S. gr.	27,08 S. gr.
„ 26 „ „ „ September	15,8 „ „	30,10 „ „
„ 7 „ „ „ Oktober	15,42 „ „	31,92 „ „

Sodann nahm ich in drei anderen Emmentalerkäsereien solche Untersuchungen vor, oder ließ sie durch die in denselben arbeitenden gehörig instruierten und mir als zuverlässig bekannten Käser ausführen. Sowohl die gefundenen Säurezahlen als auch die von den Käsern gemeldeten Beobachtungen stimmten nun sehr gut mit den unserigen überein.

Interessanter und technisch bedeutungsvoller als die nackten Zahlen waren aber die besonderen Beobachtungen an den auf Säurezunahme kontrollierten Käsen.

Zunächst ist hervorzuheben, daß die Molke beim Ausziehen der Käse noch vollständig süß sein muß. Während der Fabrikation fand ich bei 3 Kontrollversuchen nur eine kaum merkliche Veränderung des Säuregrades. Der Säuregrad der Molken hat bei den drei Stichproben, ähnlich wie dies schon Bächler konstatierte, eher eine kleine Abnahme erfahren. Die Molke befindet sich also offenbar im Käsekessel in einer Art Inkubationsstadium und beginnt erst in der frischen Käsemasse lebhaft zu säuren. Ich muß diese Tatsache noch ganz besonders hervorheben. Denn sobald die Molke schon während der Fabrikation sauer wird, so scheiden sich beim nachherigen Erwärmen derselben die Albuminkörper als sogenannter Vorbruch von selbst aus. Solche Käse werden als „Vorbrüchler“ bezeichnet und haben einen kurzen, säuerlichen Teig. Das Sauerwerden der Molke darf also erst in der frischen Käsemasse auf der Presse beginnen.

Vor allem war es interessant, das Verhalten der Käse auf der Presse mit dieser Säurezunahme zu vergleichen. Alle Käse, die eine langsame Säurezunahme aufwiesen, hatten, wie der Techniker sich ausdrückt, einen mehr schwammigen Griff und ließen verhältnismäßig lange Zeit Molken abfließen. Manchmal waren die Käse nicht einmal trocken, wenn man sie nach der üblichen Zeit von ca. 20 Stunden in den Keller brachte. Solche Käse blieben auch in der Gärung locker, die feuchten Stellen fingen an zu faulen (sogenannte „Sirtenflecken“), die Lochung war nicht regelmäßig und besonders zeigten die Löcher eine unregelmäßige Wölbung, ähnlich der Oberfläche einer Walnußschale. Auch hatten diese Löcher einen eigentümlichen Glanz. Solche Löcher werden in der Käseterminologie als „Glanzloch“ bezeichnet.

Die Käse, bei denen die Säuregärung genügend rasch verlief, hatten dagegen fast durchweg den richtigen Emmentalerkäseteig, die Lochung war regelmäßig und besaß den richtigen Mattglanz, wie er bei Käsen erster Qualität gefordert wird. Schon während dem Käsen und auf der Presse konnte man sehen, daß solche Käse bedeutend mehr versprechen, als die Stücke mit zu langsamer Säurezunahme.

Dagegen glaubte ich umgekehrt bei einzelnen Käsen mit gar zu rascher Säurezunahme nach der Hauptgärung einen etwas harten Teig mit säuerlichem Geschmack zu beobachten. Es dürfte deshalb auch eine

zu rasche Säuerung der frischen Käsemasse geben. Immerhin habe ich hierfür noch zu wenig Belege. Jedenfalls ist es vorteilhaft, wenn nach 5-stündigem Verweilen des Käses auf der Presse der Säuregrad der abgepreßten und sofort aufgefangenen Molke zwischen 30—50° Soxhlet-Henkel beträgt.

Ich habe seither versucht, über die Umstände, welche auf den Gang der Säurezunahme Einfluß haben, einige Anhaltspunkte zu gewinnen. Was ich hierüber bis jetzt feststellen konnte, hat indessen meist nur praktisches Interesse. Immerhin will ich auf einige Tatsachen hinweisen, die auch für den auf dem Gebiete der Käsegärung arbeitenden Bakteriologen Wert haben.

Da ist zuerst hervorzuheben, daß die konstatierte lebhafte Säuregärung bei Temperaturen von 53—40° stattfindet, denn dies ist die Wärmephase, welche der Käse auf der Presse in den ersten 5 Stunden ungefähr durchläuft. Untersuchungen über das Verhalten der bekannten Käsegärungsorganismen bei so hohen Temperaturen fehlen bisher und es hätte hier die Forschung somit eine Lücke auszufüllen.

Sodann mögen für den Bakteriologen auch noch einige Bestimmungen interessant sein, die ich gelegentlich eines Versuches mit v. Freudenreichschen Milchsäurefermenten (Bacillus α, ε, δ, γ) ausführte. Bei den „Reinkulturkäsen" wurde jeweils an Stelle von Naturlab Labpulver und eine vom v. Freudenreichschen Laboratorium gelieferte Mischkultur verwendet. Ich konnte auf diese Weise noch drei Reinkulturkäse mit den gleichen Tags hergestellten Naturlabkäsen selbst untersuchen:

Datum der Fabrikation		Säuregrad der Käsemolke beim Auszug	nach 2 Stunden	nach 6 Stunden	Ausfall des Käses
16. Juli	Naturlabkäse	4,0	20,0	42,0	erste Qualität
	Reinkulturkäse	4,0	8,0	15,5	schwammig, Glanzloch
17. „	Naturlabkäse	4,1	16,5	52,0	saurer Teig, kurz
	Reinkulturkäse	4,0	11,5	24,5	auf der Presse gebläht
10. August	Naturlabkäse	—	—	36,0	erste Qualität
	Reinkulturkäse	—	—	17,0	schwammig, Glanzloch

Man sieht, daß alle Reinkulturkäse beträchtlich niedrigere Säuregrade aufweisen als die Naturlabkäse. Da auch die nicht auf Säurezunahme kontrollierten Reinkulturkäse im allgemeinen ähnliche Erscheinungen zeigten, wie wir sie für die Käse mit zu geringer Säurezunahme als typisch kennen lernten, so habe ich die Auffassung gewonnen, daß unter gleichen Umständen das Naturlab vorläufig noch die besseren Garantieen für die richtige Säurezunahme und für den Ausfall der Käse bietet als die Reinkulturen. Wir haben in den Jahren 1903 und 1904 im ganzen 43 Reinkulturkäse fabriziert, wovon allerdings nur die letzten 8—10 Stück auf Säurezunahme kontrolliert wurden. Deshalb möchte ich daraus nicht ein zu weit gehendes Urteil über den Wert der Reinkulturen aufstellen, umsomehr als spätere Versuche etwas bessere Säurezunahmen ergaben, und die Beobachtung auch gezeigt hat, daß man durch technische Kunstgriffe beim Käsen die Säurezunahme befördern kann. (Rechtzeitiges Brechen des Coagulums und sorgfältiges, ziemlich langes Verkäsen desselben.)

2. Weitere Untersuchungen über das Naturlab.

Aus dem ersten Teil ist ersichtlich, daß das Naturlab für das Gelingen der Käse jetzt noch bessere Garantieen zu bieten scheint als andere Labsorten. Im zweiten Teil muß ich aber leider konstatieren, daß das Naturlab doch auch seine Nachteile hat, und daß besonders die Reinkulturen, wenn sie durch Zuchtwahl verbessert werden können, die Betriebssicherheit wesentlich erhöhen würden.

Man ist heute einig, daß die meisten auf der Presse geblähten Käse durch Bakterien aus der Gruppe des Bacterium coli commune und des Bacterium lactis aërogenes verursacht werden. Die sogenannten Aërogenes-Preßler sind in der Regel noch viel schlechter als die Coli-Preßler. Nun ist durch Untersuchung verschiedener Forscher bekannt, daß diese Pilze auch als unliebsame Gäste im Naturlab vorkommen. Ich könnte hierzu eine Reihe von gelegentlichen Untersuchungen als Belege anführen, da aber diese Frage, wie mir bekannt ist, vom Laboratorium des Herrn Dr. v. Freudenreich besonders eingehend bearbeitet wird, kann ich mich hier auf die Mitteilung einer einzigen interessanten Beobachtung beschränken.

Das Lab kann nämlich oft in ziemlicher Menge Coli-Bakterien enthalten, ohne daß ein Preßlerkäse entsteht. Es scheint hier auch auf eine gewisse Anlage der Milch anzukommen. Man beobachtet nämlich in der Schweiz in der ersten Hälfte November, wenn das letzte bereifte Gras und die 1-jährigen Futterpflanzen gefüttert werden, häufig das Auftreten sogenannter Preßlerkäse. Die von uns durchgeführte Bekämpfung einer solchen Störung hat nun gezeigt, daß durch Verwendung von Labpulver oder noch besser mit Labpulver und sogenanntem „Käsereisauer" die Störung beseitigt werden konnte. Die Blähungserreger im Naturlab wurden durch Einstellen der gelabten Mischmilch in die „Käsegärprobe" (bei 38° C) nachgewiesen, eine Methode, die sich bei uns seit Jahren bewährt hat.

Folgender Auszug aus der Betriebskontrolle gibt ein Bild über den Verlauf der genannten Störung:

Datum der Fabrikation	Verwendetes Lab	Verhalten der Käsegärprobe	Verhalten des Käses
12. November	Naturlab	normal	normal
13. „	„	gebläht	leicht Preßler
14. „	„	„	stark Preßler
15. „	Labpulver	normal	normal, etwas weich
16. „	Labpulver und Sauer	„	normal
17. „	„ „ „	„	„
19. „	Naturlab	gebläht	Preßler
20. „	Labpulver und Sauer	normal	normal

Am 18. November wurde die Milch nicht auf Käse verarbeitet. Man sieht, daß vom 12. November an, als die ersten starken Fröste über das Land zogen, alle Naturlabkäse auf der Presse gebläht wurden. Erst am 27. November fiel die Prüfung des Labes mit der Mischmilch wieder gut aus, so daß wir die Verwendung des Naturlabes wieder aufnehmen konnten.

Interessant ist, daß um die gleiche Zeit von 4 anderen Emmentalerkäsereien Meldungen über gleiche Störungen einliefen, denen wir natürlich sofort den Rat erteilten, einstweilen anstatt Naturlab Labpulver und

Käsereisauer zu verwenden. Von drei Käsereien, M., L. und D., kam die Meldung, daß dies sofort geholfen habe. Seitdem seien sie nun aber wieder zur Verwendung von Naturlab übergegangen, ohne Nachteile zu verspüren.

Daraus läßt sich schließen, daß die Milch während der Fütterung von stark bereiftem Gras und 1-jährigen Futterpflanzen gegen die Coli-Bakterien des Labes nicht mehr genügend widerstandsfähig war. Es ist das eine interessante Wahrnehmung, von der man praktisch Nutzen ziehen kann. Wissenschaftlich müßte man sich die Erscheinung so erklären, daß in der normalen Kuhmilch Coli-bakterizide Körper vorkommen können und aus diesem Grunde die Milch für die Coli-Bakterien des Labes nicht immer gleich empfänglich ist. Nach einzelnen Angaben in der medizinischen Literatur scheint eine solche Annahme berechtigt zu sein.

Beim Entstehen von Preßlerkäsen dürfte sich der Versuch empfehlen, auf die Anwendung von Naturlab zu verzichten, indem die Anwendung von Labpulver und Käsereisauer in diesem Zeitpunkt der Milch besser angepaßt erscheint. Natürlich wird auch dies kein Universalmittel gegen Preßlerkäse sein. Wenn die Milch selbst stark mit Blähungserregern verseucht ist, so wird überhaupt kaum irgend ein Mittel dagegen aufkommen.

Man sieht aber gerade aus den hier mitgeteilten Untersuchungen über das Käsereilab, wie die in demselben vorhandenen Coli- und Aërogenes-Bakterien dem Betrieb Unannehmlichkeiten verursachen können, und wie sehr es zu begrüßen ist, wenn wir einst zu Reinkulturen gelangen, die die gleichen vorteilhaften Eigenschaften aufweisen wie das Naturlab, aber von den unliebsamen Beimengungen mit Sicherheit freigehalten bleiben.

Zusammenfassung der Resultate.

1) Die Molke darf während dem Käsen keine Säurezunahme aufweisen, dagegen findet in der frischen Käsemasse gewöhnlich eine so rasche Säurebildung statt, daß der Säuregrad der abgepreßten und sofort aufgefangenen Molke schon nach den ersten 5 Stunden 30—55° Soxhlet-Henckel beträgt.

2) Käse mit genügend rascher Säurezunahme bekommen einen soliden Teig, verhalten sich auf der Presse günstiger und werden in der Hauptgärung richtig gelocht. Käse mit zu langsamer Säurezunahme haben einen schwammigen Teig, lassen lange Zeit Molken abfließen und werden vielfach überhaupt nicht trocken. In der Gärung bekommen diese Käse viele kleinere Löcher mit besonderem Glanz und höckeriger Begrenzung, manchmal auch Rindenfehler und Gläs. Eine zu rasche Zunahme scheint dagegen einen kurzen, säuerlichen Teig zu begünstigen.

3) Mit Naturlab hat man eine bessere Säurezunahme erzielt als mit Labpulver oder mit Labpulver und v. Freudenreichschen Reinkulturen. Das Verhalten der betreffenden Käse entsprach den unter 2) gemachten Angaben.

4) Das Naturlab garantiert indessen vielfach nicht die wünschbare Betriebssicherheit, weil die in demselben häufig vertretenen Blähungserreger (Bacterium coli commune und Bacterium lactis aërogenes) bei einer gewissen Veranlagung der Milch Preßlerkäse erzeugen bezw. begünstigen. In solchen Fällen hat die Anwendung von Labpulver und gutem Käsereisauer schätzenswerte Dienste geleistet.

Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe[1]).

Von **H. Will.**

VI. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden.

IV. Wachstumsform der einzelnen die Riesenkolonieen zusammensetzenden Zellen in Einzellkolonieen.

Den Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchungen über die Wachstumsform der vier Hefen auf festem Nährboden bildete die Beobachtung, daß diese in Einzellkolonieen je nach der Abstammung des zu den Kulturen von der gleichen Hefenart verwendeten Aussaatmateriales, insbesondere nach der Entwickelungsperiode, in welcher es sich befand, eine sehr verschiedenartige war.

Das eingehende Studium der einzelnen in den Kahmhäuten auftretenden Zellelemente hat erkennen lassen, daß bei einzelnen derselben bestimmte Wachstumsformen auftreten, durch welche sie, wenn auch nicht scharf, von anderen gleichgestalteten doch bis zu einem gewissen Grad unterschieden werden können. Hierdurch ist es aber möglich, in einem gegebenen Falle Rückschlüsse zu ziehen.

Aus diesem Grunde bot es gewiß Interesse, auch zu untersuchen, ob die in den Riesenkolonieen auftretenden Zellformen die gleichen Wachstumserscheinungen in Einzellkolonieen darbieten wie diejenigen aus Kahmhäuten.

Leider weisen die bis jetzt vorliegenden Untersuchungen noch große Lücken auf. Sie beschränken sich auf Studien an den Riesenkolonieen vom Stamm 2, 7 und 93 und, abgesehen vom Stamm 93, nur auf die Wachstumserscheinungen bei Anwendung von 10-proz. Würzegelatine. Gleichwohl bieten sie mehr als genügende Anhaltspunkte dafür, daß auch nach dieser Richtung hin und bei den hervorstechendsten Zellelementen im allgemeinen eine Uebereinstimmung zwischen den Riesenkolonieen und den Kahmhautbildungen besteht.

Was zunächst die Dauerzellen betrifft, um diese vorwegzunehmen, so ergaben schon die direkten mikroskopischen Untersuchungen der bei niederer Temperatur auf Würzegelatine gewachsenen Riesenkolonieen, daß im zentralen Teil derselben sich Zellen befinden, welche die für die Dauerzellen charakteristischen Keimungserscheinungen darbieten. Auch sonst wurde festgestellt, daß sehr häufig aus Zellen mit dem vollen Charakter der Dauerformen Sproßverbände mycelartiger Glieder hervorgegangen waren.

Auch die übrigen Wachstumserscheinungen, welche früher bei der Aussaat von Dauerzellen beobachtet wurden, fanden sich in Einzellkolonieen vor, welche auf Mutterzellen mit dem Charakter der Dauerformen zurückzuführen waren.

Es darf also mit Sicherheit angenommen werden, daß wie in den Kahmhäuten auch in den Riesenkolonieen, und zwar hier insbesondere in der zentralen, der ursprünglichen Aussaatstelle entsprechenden Partie

1) Nach Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. (Zeitschr. ges. Brauwesen. Bd. XXVIII. 1905. No. 5 u. 6. p. 71—75, 93—97. Vergl. d. Centralbl. Bd. I. 1895. p. 449; Bd. II. 1896. p. 752; Bd. V. 1895. p. 726; Bd. IX. 1902. p. 135; Bd. XII. 1904. p. 294; Bd. XIII. 1904. p. 449; Bd. XIV. 1905. p. 129.)

Dauerzellen mit allen charakteristischen Merkmalen zur Ausbildung gelangen.

Nachdem die Wahrscheinlichkeit nahezu zur Gewißheit geworden, daß die in der zweiten Entwickelungsphase, zur Zeit der Kraterbildung, auch äußerlich hervortretenden derben, wurstförmigen Zellen der zentralen Partie den Kahmhautzellen 2. Generation entsprechen, war es von besonderem Interesse, deren Verhalten in Einzellkolonieen kennen zu lernen.

Die Einsaat in gewöhnliche 10-proz. Würzegelatine wurde in der Weise vorgenommen, daß mit einer Lanzettnadel der Oberfläche der zentralen Partie einer mindestens 3 Monate alten, auf Würzegelatine gewachsenen Kolonie an den Schleimkratern (mit Netzwerk derber wurst- und mycelfadenartiger Zellen, zu Sproßverbänden vereinigt) und deren Umgebung (den aufgewulsteten Rändern derselben, den kleinen Höckern der Oberfläche) kleine Proben entnommen und sehr sorgfältig in einer möglichst geringen Menge der verflüssigten Gelatine verteilt wurden. Die Gelatine wurde auf Deckgläschen der Böttcherschen feuchten Kammer aufgetragen. Die Kulturen wurden teils bei 20° C, teils bei Zimmertemperatur beobachtet.

Es ist ohne weiteres klar, daß bei dieser Probenahme die Aussaat neben Sproßverbänden derber wurst- und mycelfadenartiger Zellen auch noch andere Zellformen enthielt.

Nach 48 Stunden waren die Kolonieen wie gewöhnlich so weit herangewachsen, daß sie makroskopisch sichtbar waren. Schon das Lupenbild ließ erkennen, daß zwei scharf voneinander unterschiedene Gruppen von Kolonieen zur Ausbildung kommen:

1. Eine Gruppe von mehr oder weniger regelmäßigen Kolonieen, die nicht selten in größerer Anzahl beisammen liegen. Gerade letztere Fälle ergeben aber unzweifelhaft, wie auch schon nach 24 Stunden konstatiert wurde, daß es sich um Kolonieen handelt, welche aus den zarteren, wurstförmigen Zellen hervorgegangen sind. Die Kolonieen bestehen fast ausschließlich aus kleinen, rundlichen und ovalen Zellen, deren Inhalt nur wenig gekörnt erscheint.

Bei Stamm 7 waren die völlig regelmäßigen Kolonieen oder solche mit nur geringen Abweichungen gegenüber den völlig, schon der ersten Anlage nach unregelmäßigen Kolonieen in der Minderheit. Eine in verschiedenen Gesichtsfeldern mit schwacher Vergrößerung vorgenommene Zählung ergab im Durchschnitt ein Verhältnis der regelmäßigen zu den unregelmäßigen Kolonieen wie 1 : 2.

Wenn wie bei Stamm 2 und 93 die kleinen ovalen, den Kahmhautzellen 1. Generation ähnlichen Zellen nur regelmäßige Kolonieen (Formtypus I) entwickeln würden, so müßten dieselben bei der Einsaat in verhältnismäßig geringer Zahl vorhanden gewesen sein, was jedoch den Tatsachen nicht entspricht.

Die regelmäßigen Kolonieen bestanden aus kleinen ovalen Zellen; Riesenzellen, wie an den unregelmäßigen, wurden hier nicht beobachtet. Ob sie gänzlich fehlen, läßt sich jedoch mit absoluter Sicherheit nicht sagen.

2. Die zweite Gruppe bildeten die unregelmäßigen Kolonieen. Bei diesen ließen sich wieder zwei Kategorieen unterscheiden.

a) Solche Kolonieen, welche aus weit ausgebreiteten, deutlich übersehbaren Sproßverbänden ausgesprochen wurstförmiger Zellen ohne einen dichteren Kern bestanden, und

b) solche, welche einen dichteren Kern besaßen und aus ovalen und gestreckt ovalen Zellen zusammengesetzt waren.

Meist sind die Kolonieen der Kategorie a dem Umfang nach etwas kleiner als diejenigen der Kategorie b und der ersten Gruppe, sie lassen aber gerade deswegen in sehr vielen Fällen noch bestimmt ihre Abstammung von den derben wurstförmigen Zellen erkennen. Die Zellelemente, welche dieselben vorherrschend oder fast ausschließlich zusammensetzen, zeigen kurze Wurstform, die gestreckt-ovale oder ähnliche. Jedenfalls herrscht bei sämtlichen Zellen dieser Kolonie die Tendenz zur Streckung vor.

Einzelne, aus ausgebreiteten Sproßverbänden bestehende Kolonieen fanden sich, deren Abstammung von derben wurstförmigen Zellen nicht angezweifelt werden konnte und welche nur aus wurstförmigen, überhaupt langgestreckten, zuweilen in die Keulenform übergehenden Zellen zusammengesetzt waren.

Bei einer Vergleichung der Wachstumsverhältnisse dieser Kolonieen und der in denselben auftretenden Zellformen mit den aus Kahmhautzellen 2. Generation erhaltenen Kolonieen besteht nach den vorhandenen Zeichnungen vollständige Uebereinstimmung zwischen beiden.

Bemerkt mag noch sein, daß die Zellen dieser Sproßverbände nicht die derbe Beschaffenheit wie die den Ausgangspunkt bildenden Mutterzellen aufweisen. Die ausgewachsenen Endzellen der Sproßverbände werden immer größer, die Größenverhältnisse der Zellen des Hauptstammes nehmen also zentrifugal zu.

Bei Stamm 93 wurde als Maximalzahl für diese Zellen 19:5 μ, als Minimalzahl 11:5 erhalten.

In einzelnen Fällen war als Mutterzelle der ausgebreiteten Sproßverbände wurstförmiger Zellen bestimmt auch eine Dauerzelle zu erkennen.

Außer diesen scharf getrennten Gruppen von Kolonieen finden sich, wie schon bemerkt, andere vor, welche zwischen beiden stehen, entschieden aber mehr zur zweiten Gruppe hinneigen, trotzdem aus dem Rand der Kolonie kleine Sproßverbände hervorragen. Letztere weisen im Gegensatz zum Kern der Kolonie mit runden und ovalen Zellen gestreckt-ovale Elemente auf.

Wahrscheinlich machten sich ähnliche Erscheinungen geltend, wie sie bei dem Wachstum der Kolonieen aus den zarteren wurstförmigen Zellen der Randpartie der Riesenkolonie beobachtet wurden.

Eine längere Zeit hindurch fortgesetzte Beobachtung ergab hinsichtlich der Form der Kolonieen keine wesentliche Aenderung.

Jedenfalls darf aus diesem Untersuchungsergebnis der Schluß gezogen werden, daß in der zentralen Partie der in der zweiten Entwickelungsphase befindlichen Riesenkolonieen Zellen auftreten, welche nach ihrem Wachstum auf 10-proz. Würzegelatine den Kahmhautzellen 2. Generation und den Dauerzellen gleichen. Die Unterseite der Riesenkolonieen mit den rhizoidenartigen Anhängen besteht ebenso wie die Markschichte der Ströme im wesentlichen aus Sproßverbänden sehr langgestreckter, wurstwörmiger Zellen, wie früher ausführlicher dargelegt wurde.

Bei mancher Aehnlichkeit mit den in der zweiten Entwickelungsphase der Riesenkolonieen auftretenden Zellen in morphologischer Beziehung lassen dieselben auch in dieser Hinsicht gewisse Unterschiede, auf welche früher wiederholt hingewiesen wurde, erkennen. Es war daher von

Interesse, zu untersuchen, ob sich diese Unterschiede auch auf die Wachstumsverhältnisse der Einzellkolonieen erstrecken würden.

Eingehendere Studien liegen hier bei Stamm 93 und 7 vor.

Nach 3 Tagen weicht an den teilweise 0,5 mm großen Kolonieen die Form kaum von der regelmäßigen (Typus I) ab. Es ist aber auch ohne weiteres ersichtlich, daß die Kolonieen sehr häufig in mehr oder minder großer Zahl in Gruppen dicht beieinander liegen. Die Durchsicht der Kulturen mit schwacher Vergrößerung läßt nun sehr deutlich erkennen, daß die Ursache dieser Erscheinung darin zu suchen ist, daß mehr oder weniger große Sproßverbände unversehrt in die Gelatine bei der Einsaat übergeführt worden waren. Diese hatten sich, wie schon nach 24 Stunden festgestellt wurde, ebenfalls nicht mehr mit langgestreckt-wurstförmigen Zellen, sondern nur mit rundlichen und ovalen vermehrt.

Zerteilt man die Kolonieen nach dem Auflegen des Deckglases der feuchten Kammer durch einen Druck auf dasselbe, so kommen die langgestreckt-wurstförmigen Zellen der Aussaat wieder zum Vorschein. Nicht selten sind sie seitlich von zahlreichen „Sterigmen“ bedeckt.

Bei Stamm 7 waren die Kolonieen lockerer und nicht ganz so regelmäßig wie bei Stamm 93.

Die Wachstumsform der in Rede stehenden Zellen wurde bei Stamm 93 auch auf 10-proz. Biergelatine studiert.

Das Einsaatmaterial war das gleiche wie bei den Untersuchungen über die Wachstumsform auf 10-proz. Würzegelatine.

Das Aussehen der Kolonieen stimmt mit denjenigen auf Würzegelatine insofern überein, als die an den Enden der Einzelglieder, seitlich an den Sproßverbänden langgestreckt-wurstförmiger Zellen entwickelten Tochterindividuen dichte Zellhaufen bildeten. Diese Zellhaufen weichen aber in der Form von den auf Würzegelatine gebildeten Kolonieen dadurch ab, daß sie unregelmäßig sind, indem die Tochterzellen noch durch Sproßverbände im Zusammenhang stehen, welche über einen dichteren Kern hervorragen. Es findet sich eine Reihe sehr hübscher Kolonieen, welche durch die zwischen denselben liegenden langgestreckten Zellen ganz unzweifelhaft ihren Ursprung an den Sproßverbänden der letzteren beweisen.

Nach 3 Tagen ist das Bild, welches die Kolonieen darbieten, ein verschiedenes. Es sind Kolonieen vorhanden, in welchen sich die Zellhaufen nahezu ausgeglichen haben und infolgedessen, wenn sie auch nicht streng regelmäßige Form besitzen (Typus I), so doch nur wenig von dieser abweichen. An den Randpartieen sind nur mehr kleine Sproßverbände erkennbar. Jedenfalls ist hierbei zu berücksichtigen, daß in der Biergelatine wegen ihrer größeren Weichheit, die den heranwachsenden Sproßverbänden geringeren Widerstand entgegensetzt als 10-proz. Würzegelatine, nach allen früher gemachten und schon mitgeteilten Erfahrungen niemals so streng regelmäßig geformte Kolonieen zu stande kommen, wie in der 10-proz. Würzegelatine.

Unter allen Umständen macht sich aber auch auf der Biergelatine vorherrschend die gleiche Tendenz der in reichlicher Zahl ausgebildeten Zellen geltend, auf einem Haufen beisammen zu bleiben und nicht wenige ausgebreitete Sproßverbände zu bilden. Auf diesen Punkt ist gegenüber den Wachstumserscheinungen der aus den Kahmhautzellen 2. Generation bezw. der in der 2. Entwickelungsphase der Riesenkolonieen auf der Oberseite derselben auftretenden wurstförmigen Zellen hervorgegangenen Kolonieen Gewicht zu legen.

Die eingesäten Sproßverbände langgestreckt-wurstförmiger Zellen bezw. Einzelglieder derselben waren sicher nicht mit der gleichen Form weitergewachsen.

Nach den bis jetzt vorliegenden Untersuchungen haben sich also für die langgestreckt-wurstförmigen Zellen der Unterseite der Riesenkolonieen einerseits (A) und die in der 2. Entwickelungsphase der Kahmhäute und der Riesenkolonieen auftretenden derben wurstförmigen Zellen andererseits (B) hinsichtlich der Wachstumserscheinungen der Einzellkolonieen innerhalb der ersten Tage folgende Unterschiede ergeben:

A.	B.
10-proz. Würzegelatine.	10-proz. Würzegelatine.
Kolonieen regelmäßig (Zellen oval und rundlich).	1. Kolonieen vorherrschend regelmäßig. 2. Kolonieen unregelmäßig. a) Ausgebreitete und dichter gedrängte Sproßverbände der gleichen oder ähnlicher Zellen wie die Mutterzelle. b) Gemischte Wachstumsform.
10-proz. Biergelatine.	10-proz. Biergelatine.
Kolonieen mehr oder weniger regelmäßig, locker.	1. Kolonieen vorherrschend unregelmäßig. a) Durch direckte Weiterentwickelung der eingesäten Sproßverbände und Einzelglieder derselben mit der gleichen oder ähnlichen Zellform. b) Lockere Haufen aus rundlichen und ovalen Zellen in geringer Zahl. 2. Kolonieen mehr oder weniger regelmäßig, vereinzelt.

Das wichtigste Resultat der vorstehenden Untersuchungen ist also, daß die Wachstumsform der zarteren wurstförmigen Zellen der Kahmhautzellen 1. Generation und der langgestreckt-wurstförmigen Zellen der Unterseite der Riesenkolonieen in Einzellkolonieen einerseits und der Kahmhautzellen 2. Generation sowie der derben wurstförmigen, in der 2. Entwickelungsphase der Riesenkolonieen auftretenden Zellen andererseits im wesentlichen übereinstimmt, und daß zwischen beiden Gruppen von Zellen hinsichtlich der Wachstumsform der auf den angewendeten Substraten entwickelten Kolonieen die gleichen Unterschiede bestehen.

Auch über die Wachstumsform der in den übrigen Partieen der Riesenkolonieen auftretenden Zellen wurden in der gleichen Weise wie bei dem der zentralen Partie und der Unterseite entnommenen Aussaatmaterial Beobachtungen angestellt und sei in dieser Beziehung auf die Originalmitteilung verwiesen.

Aus allen Beobachtungen geht hervor, daß sowohl hinsichtlich der Wachstumsform der Kahmhautelemente und der die Riesenkolonieen zusammensetzenden Zellen im allgemeinen als auch hinsichtlich der Wachstumsform einzelner, besonders charakterisierter, in beiden Fällen auftretender Zellelemente in Einzellkolonieen ein weitgehender Parallelismus zwischen der Kahmhautbildung auf flüssigen und den Riesenkolonieen auf festen Substraten besteht.

Die Beweisführung für die Identität der beiden Erscheinungsformen der Hefen erhält damit aber eine weitere Stütze, die, es ist dies schon jetzt meine Ueberzeugung, auch dann nicht erschüttert werden wird, wenn erst noch ausgedehntere Untersuchungen an den 4 Hefen über die Wachstumsform der verschiedenen in den Riesenkolonieen auftretenden Zellelemente durchgeführt sein werden.

Die Kahmhautgenerationen sind es also, welche den Riesenkolonieen das charakteristische Gepräge verleihen; die Kahmhautgenerationen sind es überhaupt, in welchen das morphologische Gepräge der Hefenarten zum Ausdruck gelangt und deshalb von hoher Bedeutung für die Systematik der Saccharomyceten sind.

Wenn aber tatsächlich die Riesenkolonieen und die Kahmhautbildung identisch sind, so wird man auch die Untersuchung über die Kahmhautbildung in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur, welche zuerst von Emil Chr. Hansen als ein wichtiges Moment für die Diagnose der Hefen erkannt wurde, nicht mehr auf flüssigem, sondern vielmehr auf festem Nährsubstrat durch das Studium der Riesenkolonieen vornehmen müssen.

Zum Schluß mögen noch einmal die Hauptpunkte, welche sich bei den Studien an den Riesenkolonieen ergeben haben, hervorgehoben sein:

Die Riesenkolonieen auf festen und die Hautbildungen auf flüssigen Nährsubstraten sind gleichwertig, identisch.

Die Beweisführung stützt sich auf die Entwickelungsgeschichte der beiden Erscheinungsformen der Hefen und die morphologische, sowie physiologische Gleichwertigkeit der in den verschiedenen Entwickelungsphasen beider auftretenden Zellelemente.

Die Riesenkolonieen auf festen und die Hautbildungen auf flüssigen Nährsubstraten lassen zwei Entwickelungsphasen erkennen, welche durch bestimmte Zellelemente und bei den Riesenkolonieen durch bestimmte Erscheinungsformen charakterisiert sind.

Bei den Hautbildungen kommen diese zwei Entwickelungsphasen meist sehr scharf und gleichmäßig in größerer Ausdehnung zum Ausdruck.

Die für jede der zwei Entwickelungsphasen charakteristischen Zellelemente entstehen in beiden Fällen in gleicher Weise von verschiedenen, aber in beiden Fällen gleichwertigen Mutterzellen.

Bei mancher Aehnlichkeit der für die zwei Entwickelungsphasen charakteristischen Formen, der langgestreckt-wurstförmigen Zellen, sind dieselben, abgesehen von der Abstammung, nach allen Beobachtungen, die sich auf die Wachstumserscheinungen an den Riesenkolonieen und an Einzellkolonieen erstrecken, voneinander verschieden, sie sind morphologisch und physiologisch nicht gleichwertig.

Ein weiterer Beweis für die Identität der beiden Entwickelungsphasen der Riesenkolonieen und der Hautbildung liegt in der Wachstumsform der Riesenkolonieen aus Reinkulturen der Zellelemente der ersten und zweiten Entwickelungsphase, der Kahmhautzellen 1. und 2. Generation.

Die Formerscheinungen, welche bei Aussaat von Kahmhautzellen 1. Generation an den Riesenkolonieen, in günstigen Fällen selbst auf Biergelatine, auftreten, stimmen im allgemeinen mit denjenigen überein, welche in der ersten Entwickelungsphase der Riesenkolonieen aus der Gärungsform auftreten. Insbesondere zeigen die Riesenkolonieen aus Kahmhautzellen 2. Generation auf Biergelatine ganz unzweifelhaft die Wachstumserscheinungen, welche in der zweiten Entwickelungsphase der

Riesenkolonieen aus der Gärungsform mehr oder minder scharf zum Ausdruck gelangen.

Die Kahmhautgenerationen sind es also, welche den Riesenkolonieen das charakteristische Gepräge verleihen, die Kahmhautgenerationen sind es überhaupt, in welchen das morphologische Gepräge der Hefenarten zum Ausdruck gelangt und deshalb von hoher Bedeutung für die Systematik der Saccharomyceten sind.

Die Form der Riesenkolonieen ist unter den gleichen Bedingungen, bei dem gleichen Aussaatmaterial und gleichmäßiger Behandlung desselben im wesentlichen immer die gleiche.

Wir besitzen also in den Riesenkolonieen ein sehr beständiges und deshalb um so wertvolleres diagnostisches Merkmal.

Die vorkommenden Abweichungen der Wachstumsform sind keine prinzipiellen, sondern nur graduelle. Die Variation der Wachstumsform ist bei den Riesenkolonieen aus Kahmhautzellen 1. Generation viel häufiger und regelmäßiger als bei denjenigen aus der gewöhnlichen Bodensatzhefe, der Gärungsform, sie bewegt sich jedoch nur innerhalb der Formen, wie sie auch bei den Riesenkolonieen der Bodensatzhefen auftreten, ist jedoch schärfer ausgeprägt.

Die Wachstumsform wird von dem Substrat, auf welchem die Riesenkolonie wächst, nach zwei Richtungen hin beeinflußt. Erstens ist die Zusammensetzung der dargebotenen Nährlösung bestimmend, zweitens das Bindemittel, durch welches die gleiche Nährlösung in feste Form gebracht wird.

So verschieden aber in einzelnen Fällen die Wachstumsform der gleichen Hefe auf verschiedenen Substraten zu sein scheint, so wird sie gleichwohl von demselben Entwickelungsgesetz beherrscht.

Die Gesetzmäßigkeit kommt, wenigtens für die erste und bis zu einem gewissen Grad auch für die zweite Entwickelungsphase, am schärfsten auf 10-proz. Würzegelatine zum Ausdruck.

Die zweite Entwickelungsphase tritt besser und übersichtlicher in die Erscheinung, wenn die Würze noch gewisse Zusätze (Stickstoff) enthält.

Bei den Riesenkolonieen auf 10-proz. Würzegelatine tritt die erste Entwickelungsphase in den Vordergrund, während die zweite zwar deutlich, aber nur in geringerem Umfang zur Entwickelung gelangen kann, weil meist schon sehr frühzeitig die Gelatine verflüssigt und die Riesenkolonie hierdurch zerstört wird.

Auf Gelatine mit vergorener Würze tritt dagegen in der Regel die erste Entwickelungsphase mit charakteristischer Ausbildung zurück.

Die Wachstumsform der Riesenkolonieen wird ferner durch individuelle Eigentümlichkeiten des Aussaatmaterials beeinflußt.

Die Temperatur übt bei den vier untersuchten Arten von untergäriger Bierhefe auf die Wachstumsform der Riesenkolonieen keinen wesentlichen Einfluß aus. Diese bleibt auf dem gleichen Substrat, soweit bisher Untersuchungen vorliegen, bei allen Temperaturen die gleiche.

In den Hautbildungen sind die verschiedenen Zellelemente regellos zerstreut; in den normal ausgebildeten Riesenkolonieen erscheinen sie dagegen in bestimmter regelmäßiger Weise angeordnet.

Die Riesenkolonieen sind organisiert; es kann eine durch ihre Zellelemente gut charakterisierte Markschicht (aus Verbänden langgestreckter Zellen — Mycel — bestehend) und ebenso eine Rindenschicht (im allgemeinen rundliche bis ovale Zellen mit sehr viel Oelkörperchen) unterschieden werden.

An den Riesenkolonieen treten haarartige Gebilde in Form von Zotten auf, die hauptsächlich auf der Unterseite als Rhizoiden entwickelt sind; doch können solche auch auf der Oberseite der Kolonieen zur Entwickelung gelangen. Die Rhizoiden-gleichen Anhänge bestehen aus den Zellelementen der Markschicht.

Der Grundplan, nach welchem die bei Temperaturen zwischen 20 und 9° C gewachsenen Riesenkolonieen aufgebaut sind, erscheint bei allen vier Hefen der gleiche. So ungemein schwierig es ist, an den Riesenkolonieen auf den verschiedenen Nährsubstraten die gleiche Gesetzmäßigkeit in der Entwickelung und den gleichen Grundplan in dem Aufbau derselben wiederzuerkennen, so geht doch, soweit die Untersuchungen reichen, durch alle der gleiche, gemeinschaftliche Zug hindurch.

Wenn die Riesenkolonieen der gleichen Hefe auf verschiedenen Nährsubstraten verschiedene Wachstumsformen zeigen, so kann dies darin begründet sein, daß 1) dieselben lange im Jugendzustand verharren, 2) eine Verschiebung des gegenseitigen Mengenverhältnisses der die Kolonieen aufbauenden Zellelemente stattfindet, 3) bald die erste, bald die zweite Entwickelungsphase stärker zum Ausdruck gelangt oder übersprungen wird, 4) die eigentlichen formbildenden Zellelemente fehlen oder nur in geringem Maße oder sehr spät zur Ausbildung gelangen.

In allen Fällen, insbesondere für die Verschiedenheit der beiden Entwickelungsphasen, scheinen spezielle Ernährungsverhältnisse und die verschiedene Neigung der ursprünglich vorhandenen und in den ersten Entwickelungsstadien neu entstehenden Zellelemente zur Erzeugung der formgebenden Zellen von maßgebendem Einfluß zu sein.

Innerhalb des allgemeinen Grundplanes im Aufbau der Riesenkolonieen treten bei den vier untersuchten Arten von untergäriger Bierhefe mehrfache Variationen auf, die sich wesentlich auf die Häufigkeit der verschiedenen Zellelemente beziehen. Dieses Verhältnis findet sein Analogon in den verschiedenen Kahmhautbildungen auf flüssigen Substraten.

Die Hefen erzeugen in den Hautbildungen Zellen von spezifischer Form, welche neben den die allgemeine Wachstumsform der normalen Riesenkolonieen bedingenden Zellelementen die spezifischen Erscheinungsformen der Riesenkolonieen der verschiedenen Hefenarten mit verursachen.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Société chimique de Belgique. Séance du 29 janvier 1905.

Sur quelques phénomènes de coagulation produits par les borax (Agglutination de la levure).

Résumé d'une communication faite par **Henri van Laer,**
Directeur de l'Institut supérieur de brasserie de Gand, professeur à l'Ecole des mines et faculté polytechnique de la Province du Hainaut.

Si, à une dilution épaisse de levure dans de l'eau, on ajoute une solution de borax, on voit les cellules se réunir en grumeaux de plus

en plus gros qui ne tardent pas à se séparer du liquide. Ce fait avait été observé incidemment en 1872 par Dumas et en 1893 par Will.

Vanderstichelen l'avait utilisé en 1898 dans un brevet ayant pour objet l'utilisation de la levure de bière, pour la fabrication d'extraits alimentaires; en 1902, il a essayé de l'appliquer à la transformation des levures de brasserie en levures de boulangerie. On peut reconnaître que l'acide boracique ne présente rien de comparable au borax; le coagulum précédent n'apparait dans un dilution de levure additionnée d'acide boracique, qu'après ajoute de carbonate de soude.

A l'examen microscopique, la levure traitée par le borax n'offre à part les flocons, rien qui la distingue de la levure non traitée: toutes deux se comportent de la même façon aux réactifs colorants. Les moûts ensemencés avec ces levures coagulées fermentent normalement. La levure tuée par la chaleur s'agglutine encore sous l'influence de la solution de borax.

Ce phénomène d'agglutination, comme tous les phénomènes semblables décrits jusqu'ici, rappelle dans son ensemble comme dans ses détails, la coalescence des molécules d'un corps qui se coagule.

La transformation d'une dilution liquide de levure, en une masse qu'il n'est plus possible de décanter est absolument analogue à la transformation du blanc d'œuf frais en albumine coagulée.

Rappelons que Barendrecht a étudié en 1901 l'agglutination de levures sous l'influence des acides. Il apparaît de ses expériences que l'activité des acides sur l'agglutination de la levure ne depend pas du titre de l'acide, mais du nombre d'ions H mis en présence des cellules; l'activité des acides semble en effet proportionnelle à leur degré de dissociation électrolytique. Ces phénomènes se rapprochent par certaines particularités, de ceux provoqués par le borax, mais ils en diffèrent par des caractères importants et notamment par la corrélation que l'auteur établit entre l'agglutination et la vie des cellules. Pour lui la température critique pour le faculté d'agglutination correspondrait à celle de la mort des cellules. De plus la dilution de levure peut varier dans certaines limites, sans rien changer aux conditions de l'agglutination. Il n'en est pas ainsi pour le borax. Le caséum formé par ce réactif se désagrège après un temps qui est d'autant plus court que la dose de borax employée pour produire la coagulation a été plus faible.

Le mouvement de réaction opposé à l'action du borax, provient des cellules de levure et consiste dans une production d'acide très active dans le caséum.

Si on coagule de la levure et si on ajoute quelques gouttes en excès, afin d'avoir une liqueur franchement alcaline à la phenolphtaléine, on observe après addition de l'indicateur que la coloration violette disparaît rapidement d'abord dans le dépôt de levure, puis dans le restant du liquide.

En opérant avec un grand excès de borax ou en ajoutant à la dilution un peu de carbonate de soude, la décoagulation ne s'effectue pas. Nous verrons d'ailleurs que les acides agissent comme des paralysants, l'acide borique n'ayant pas la même action que le borax.

Une goutte de la solution de borax réajoutée à la levure au moment de la décoagulation provoque de nouveau la formation du caillot. On remarque toujours qu'en dessous d'une certaine dose de borax (dose critique de coagulation) la levure conserve le même aspect, quelle que soit la durée de l'action; pour une proportion déterminée du reactif, on

aperçoit un léger callebotté, avec une goutte de plus, le vase dans lequel s'effectue l'opération peut-être retourné, sans que la masse s'en échappe.

Il est facile de constater que pour une même dilution la dose critique de borax est proportionelle au volume de dilution employée. Cela revient à dire que pour une même dilution ou pour une même distance intercellulaire, un même poids de levure exige pour se coaguler une proportion minima de $Na_2B_4O_7$.

Appelons à la dose critique de coagulation mesurée en cent. cubes de la solution $^1/_{30}$ $Na_2B_4O_7$. Si on utilise la solution $^1/_{15}$ $Na_2B_4O_7$ ou $^1/_{10}$ $Na_2B_4O_7$, on trouve que la dose critique de coagulation évaluée en cent. cubes devient a/2, a/3. Avec des concentrations plus faibles que $^1/_{30}$ $N_2B_4O_7$, on observe aussi que la dose critique est toujours telle qu'il faut toujours une proportion déterminée de borax pour coaguler un poids donné de levure. Cependant au fur et à mesure que la concentration de la solution boracique diminue, le moment de la coagulation devient de plus en plus difficile à saisir.

Les levures de brasserie exigent pour leur coagulation une dose de borax beaucoup plus forte que les levures de boulangerie. Certaines de ces levures, naturellement très flocculentes, sont refractaires à l'action du borax. Alors que 10 cent. cubes d'une levure de boulangerie s'agglutinait avec 1 cent. cube de la solution de borax $^1/_{30}$ $Na_2B_4O_7$, le même volume de dilution d'autres levures ne coagule pas encore avec 10 cent. cubes. Les chiffres fournis pour les doses critiques permettent de determiner par le calcul, qu'un poids de $Na_2B_4O_7$ peut coaguler dans les conditions de dilution énoncées (250 g de levure presse et 500 g d'eau), de 68 à 546 fois son poids de levure. La dilution de levure tuée par chauffage à 100° C se coagule moins facilement après refroidissement, que la dilution de cellules vivantes. A noter en outre, que la coagulation exige, toutes autres choses égales, plus de borax à 100° C qu'à la température ordinaire. La levure tuée ne se décoagule pas. Coagulée par un excès de borax de façon à obtenir une liqueur franchement alcaline, le caillot se tasse au fond de l'éprouvette.

Le phénomène paraît être plus marqué à basse température, comme le montrent les chiffres suivants déterminés sur 25 c. c. de dilution:

Dose critique à la témpérature ordinaire	7—8 c. c.
„ „ „ 4° C	3—4 „

A l'effet d'opérer à des températures plus basses que 0° sans congeler la masse, 250 g de levure de boulangerie ont été délayés dans 500 c. c. d'une solution de sel à 35 %.

La dose critique sur 10 c. c. de la même dilution dans de l'eau distillée était de 4 à 4,2 c. c.

Pour les dilutions salées on a trouvé:

Température ordinaire	2,7 à 3,6 c. c.
„ à 100° C	5,3 „ 5,9 „
„ „ —5° „	2,6 „ 3,1 „

A 25 c. c. de la dilution d'une levure pour laquelle la dose critique est supérieure à 10 c. c., ajoutons 5 c. c. de la solution de borax $^1/_{30}$ $Na_2B_4O_7$; aucune coagulation ne s'observe mais l'agglutination se produit instantanément, lorsque dans le mélange, on laisse couler une goutte d'une solution de chlorure de calcium à 10 %.

Reproduisons l'expérience en additionnant 25 c. c. de dilution de

la même levure, d'un demi-centimètre cube de la solution de $CaCl_2$; nous trouvons une dose critique de 3 c. c.

Les chlorures calciques alcalins à la phenolphtaléine réagissent mieux que le chlorure calcique parfaitement neutre. Ceci nous amène à croire que la résistance de certaines levures à l'action coagulante du borax pourrait bien être due à leur acidité; cette opinion se confirme, si l'on rapproche la floculence naturelle de ces levures, des conclusions de Barendrecht. Mais consultons l'expérience: 25 cent. cubes d'une dilution de levure peu agglutinable (ne coagulant pas avec 20 c. c. de la solution boracique) sont rendus franchement alcalins par ajoute de carbonate de soude; la dose critique de coagulation tombe à 2 cent. cubes.

Le sang de bœuf additionné de borax ne donne pas de coagulation instantanée, mais celle-ci se produit par l'ajoute de quelques gouttes de chlorure de calcium neutre ou alcalin. Avec un empois fluide de farine de froment, de gros flocons blancs se séparent rapidement du liquide clair. L'amidon de riz empesé flocule également, mais les flocons restent en suspension pendant des semaines, en laissant entre eux un liquide absolument clair.

Il est possible que le borate de chaux joue dans certaines des agglutinations que je viens d'énumérer, un rôle analogue à celui signalé pour l'acide silicique colloïdal et les globules du sang par Landsteiner et Jagie et pour $CaFl_2$ et $BaSO_4$ et les mêmes globules par Gengou. C'est une question que je n'ai pas examinée.

Il serait nécessaire d'étudier pour cela la nature de la charge électrique de la levure, de l'amidon et des autres éléments de la farine empesée, en émulsion dans une solution conductrice. Les globules sanguins sont d'après les recherches de Mme Girard-Mangin et de V. Henri déplacés vers l'anode par le passage d'un courant électrique. Pour la levure la question paraît pour le moment encore assez obscure.

En effet, une solution de borate de chaux absolument limpide coagule la levure comme le borax.

D'autre part, les métaux qui précipitent par le borax, tels que Hg, Zn, Cb, Mn, Ni, Co, les sels ferriques et cuivriques élévent les doses critiques de coagulation. Cette augmentation est due, au moins en partie, à ce que l'insolubilité relative des borates de ces métaux, élimine une partie de l'agent actif. Mais ce n'est par la seule cause de l'élévation de la dose critique, car le $MgSO_4$ (sulfate de magnesium) qui à froid ne précipite pas par les borates solubles, agît de même.

Les borates d'ammonium, de potassium de lithium, de baryum, de magnesium, qui sont tous plus ou moins alcalins à la phénolphthaléine agissent sur la levure comme le borax. Il est probable que le borate de strontium agirait de même, mais je n'ai pas eu l'occasion de l'essayer.

En général, les agglutinations microbiennes comme celles étudiées par Barendrecht, la floculation des troubles s'effectue sous l'action des acides libres et des sels hydrolisables de métaux lourds, à reaction acide par conséquent.

Au moment où la levure est coagulée par sa dose critique, la masse n'est pas encore alcaline à la phénolphtaléine mais la moindre augmentation d'acidité amêne la décoagulation ou augmente la dose critique. Nous nous trouvons donc ici devant un phénomène distinct des précédents.

A l'instar des diastases, l'action coagulante du borax à ses paralysants et ses adjuvants.

Les acides tels que HCl, H_2SO_4, l'acide acétique gênent l'action.

Avec une levure dont la dose critique de coagulation était pour 10 c. c. de 0,95 à 1,15, l'ajoute de 0,1 c. c. de NaOH normal, n'a pas modifié la proportion de borax nécessaire à la coagulation, on peut cependant dire que l'action de la base était favorable en ce sens qu'elle retardait un peu la décoagulation. L'emploi de doses de soude plus fortes gêne le phénomène, en déplaçant la dose critique.

Nous avons déjà mentionné l'action adjuvante du chlorure de calcium chez des levures refractaires à la coagulation; les chlorures de baryum et de strontium neutres agissent de même.

Le NaCl paraît être sans influence à faibles doses; utilisé en fortes proportions, il abaisse la dose critique. Lorsqu'on opère avec une solution de borax très étendue, par exemple à $^1/_{800}$ de $Na_2B_4O_7$ par litre, la dose critique de coagulation est moins nette et même impossible à saisir. Il en est de même lorsqu'on soumet à une solution boracique, des dilutions de levure de plus en plus diluées. Jusqu'à une certaine dilution, plus rapidement atteinte chez les levures de brasserie que chez les levures de boulangerie, il est encore possible de déterminer assez exactement la dose critique, mais au-delà, le phénomène devient incertain.

Dans les expériences relatées plus haut, j'ai toujours opéré avec des dilutions constituées de 250 g de levure pressée et 500 c. c. d'eau. Semblable dilution supposée bien homogène, renferme de 6,5 à 8 cellules par $^1/_{4000}$ de cent. cube.

Appelons 1 la distance intercellulaire correspondante. Si le volume de cette dilution varie de V à V', la distance intercellulaire varie de $\sqrt[3]{V}$ à $\sqrt[3]{V'}$.

J'ai trouvé que la courbe représentant les variations des doses critiques de coagulation avec la dilution, se confond avec une parabole ordinaire dont les abcisses mesurent les distances intercellulaires relatives et les ordonnées, les volumes de solution boracique exigés pour amener la coagulation. En d'autres termes, les doses de borax nécessaires pour agglutiner des volumes égaux de différentes dilutions de levure sont dans certaines limites, proportionnelles aux carrés des distances intercellulaires.

J'ai montré plus haut que pour une même dilution, la dose critique est proportionnelle à la quantité de levure employée. Les quantités de l'agent coagulant nécessaires pour agglutiner des masses égales de levure, se trouvant sous deux dilutions différentes, s'obtiendront donc, en multipliant les doses critiques calculées d'après la loi $y = x^2$, par la valeur du rapport des volumes.

Elles seront données par l'équation $y = x^5$ d'une parabole du 5ème degré. Il résulte de cette influence de la dilution sur la position de la dose critique, que l'ajoute d'eau à une levure coagulée doit la décoaguler. C'est ce que l'expérience vérifie même avec une levure tuée.

Je me suis demandé si l'aluminium qui continue parmi les métaux les propriétés métalloïdiques du bore, posséderait dans son action vis-à-vis de la levure des propriétés analogues. J'ai donc préparé une solution d'aluminate de soude.

La solution claire obtenue, se comporte vis-à-vis de la dilution de levure identiquement comme le borax.

Referate.

Beijerinck, M. W., Chlorella variegata, ein bunter Mikrobe. (Recueil des travaux bot. Néerl. No. 1. Sep.-Abdr. 14 p.)

In einer Reihe früherer Arbeiten habe ich darüber berichtet, wie eine ganze Anzahl niederer Algen, wie Gloeocapsa, Aphanothece, Gloeothece, Chlorella, Protococcoideen und selbst Bacillariaceen an besonderen Wohnorten (an zuckerhaltigen Baumflüssen, im Schlamm und Plankton der Gewässer, in Kellern etc.) ihre Chlorophyllfunktion völlig einbüßen können und zum Teil zu erblich chlorophyllfreien Organismen, d. h. zu Pilzen geworden sind, die ich im Gegensatz zu den echten Pilzen als Neupilze oder Cänomyceten bezeichnet habe (vergl. Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. 1893. p. 907; Hedwigia. Bd. XXXIV. 1895; Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899. Heft 1; Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 351; Plöner Forschungsberichte. Teil VII etc.). Zu diesen Caenomyceten gehört auch die aus Chlorella entstandene Pilzgattung Prototheca, von denen mehrere Arten im Pilzfluß der Bäume, in Kellern, Grabenschlamm, menschlichen Faeces bekannt sind. Ein besonders merkwürdiges hierher gehöriges Mikrob fand Verf. neuerdings in Delft im Saftfluß einer Ulme, in der sich der Weidenbohrer Cossus ligniperda angesiedelt hatte, ferner in dem von sehr verschiedenen Bäumen aus der Provinz Gelderland stammenden Pilzflußmaterial, das er von Dr. J. T. Oudemans erhielt, und schließlich im Schlamm des Delfter Stadtgrabens und in menschlichen Faeces. Dieses Mikrob, das Verf. Chlorella variegata nennt, bildet anfangs völlig farblose Kolonieen, die ganz wie Hefekolonieen aussehen, mikroskopisch jedoch die für Prototheca charakteristische endogene Fortpflanzungsweise zeigen. Die Kolonieen färben sich sodann, wenn sie 2—3 Wochen auf Biergelatine gehalten werden, tiefgrün, zunächst am Rande, schließlich jedoch auch in der Mitte.

Bei weiterer Ueberimpfung von Bier- oder Würzegelatine zeigen die Kolonieen ein buntes Aussehen (woher der Name der Art). Die Impfstriche sind dann anfangs ganz weiß oder gelblich, behalten diese Farbe am Rande dauernd bei, färben sich jedoch in der Mitte tiefgrün, hier und da auch einen grünen Sektor bis zum Rande hinaussendend. Das ganze Bild ist außerordentlich auffallend und erinnert an irgend einen Teil einer bunten höheren Pflanze mit unregelmäßiger Zeichnung, wie z. B. an die Blätter gewisser bunter Ahornvarietäten. Mikroskopisch zeigen die grünen Teile der Kolonie verschieden große Zellen, die aber alle gleichmäßig grün sind; der weiße oder gelbe Teil besteht aus einem Gemisch von zwei Zellenarten: farblosen und gleichmäßig grünlichen, ohne scharf begrenzte Chromatophoren. Die Chlorophyllmenge in diesen letzteren ist aber viel kleiner als die der tiefgrünen Zellen und auch verschieden in den verschiedenen gelblichgrünen Zellen unter sich. Gut ernährte Zellen enthalten viel Glykogen, das sich besonders in den farblosen Prototheca-Formen so stark anhäuft, daß Jod eine tief rotbraune Färbung gibt; es ist offenbar auch das Assimilationsprodukt bei der Kohlensäurezerlegung in den Chromatophoren von Chlorella. Kolonieenaussaaten von dem noch jungen grünen mittleren Teil liefern nur grüne Kolonieen, solche von der weißen oder gelblichen Randpartie geben innerhalb 3—4 Wochen der Hauptsache nach wieder weiße oder gelbliche Kolonieen,

aber untermischt mit grünen Zellen. Früher oder später treten aber auch ordnungslos grüne Sektoren oder Punkte auf. Gänzlich stabile Prototheca-Zustände wurden auf Würze- oder Biergelatineplatten nicht erhalten, wohl aber entstanden auf nahrungsarmen Böden, wie ausgewaschenem Agar mit Spuren von Ammonnitrat und Kaliumphosphat sowohl aus grünen wie aus weißen Kolonieen in den Impfstrichen bunte Gemische von tiefgrünen, gelblichen und vielen erblich stabilen weißen Kolonieen. Letztere können sich nur im Licht und bei Zutritt von Luftkohlensäure ernähren, während auf den reicheren Böden auch im vollständigen Dunkel Wachstum und Ergrünen stattfindet. Die Aussaaten der Chlorella variegata auf Biergelatine von älteren und oft übergeimpften Kulturen aus zeigen eine außerordentlich verschiedene Erblichkeit der Buntheit in den Einzelkeimen; der Einfluß der Ernährung auf die Variabilität kann nur ein indirekter sein.

Die Frage, ob die Variabilitätserscheinungen der Chlorella eine Analogie im Verhalten der höheren bunten Pflanzen finden, beantwortet Verf. dahin, daß die verschiedenen mehr oder weniger erblich stabilen Kolonieenformen, die leicht aus der Chlorella variegata gezüchtet werden können, gewissermaßen einige der verschiedenen Variationszustände repräsentieren, deren jeder für sich bei verschiedenen bunten Phanerogamen vorkommt. Eine sehr geringe erbliche Kraft zeigte bei Knospenauslese das „Bunt“ bei einem 1894 aufgefundenen sehr schönen bunten Zweig von Urtica dioica, dessen Stücke als Stecklinge weiter gediehen. Schon im Herbst 1895 war in den Nachkommen dieser Stecklinge keine Spur der Buntheit mehr vorhanden. Bei dem als völlig konstant bunt geltenden Thymus serpyllum var. citriodora konnte dagegen binnen 3 Jahren eine konstant grüne Varietät gewonnen werden. Eine äußerst schwache erbliche Konstanz zeigte die Buntheit bei Melilotus coeruleus var. connata, wo dann und wann ein buntes Exemplar auftritt. Die Enkel bunter Exemplare waren bereits ausnahmslos vollständig grün. Ganz anders verhält sich wieder Barbaraea vulgaris var. variegata, die Verf. 1895 aus einer Samenhandlung in Erfurt erhielt. Hier trat die Buntheit als völlig konstante Eigenschaft sowohl bei Stecklingszucht wie bei der Aussaat auf und durch Selektion konnten nach 7-jährigen Versuchen keine völlig grünen Pflanzen erhalten werden, nur gelang es schließlich, eine grüne Familie zu züchten, die von den ursprünglichen Pflanzen zwar deutlich verschieden war, aber nur in einem späteren Stadium der Entwickelung zur Buntheit zurückkehrte. — Der Vergleich dieser Verhältnisse mit den bei den Chlorella-Kolonieen gefundenen gewinnt an Deutlichkeit, wenn man die ganze bunte Pflanze als eine Zellkolonie auffaßt, deren Zellen den verschiedenen Zellen einer variierenden Chlorella-Kolonie entsprechen. Diese Verhältnisse würden übereinstimmen, wenn es gelänge, alle Zellen einer bunten Barbaraea-Pflanze zur Vermehrung zu bringen und daraus neue Pflanzen zu züchten. F. Ludwig (Greiz).

Dangeard, La sexualité dans le genre Monascus. (Compt. rend. Acad. Sc. Paris. T. CXXXVI. p. 1281—1283.)

Verf. nimmt die Arbeiten von Barker über zwei Genera von Monascus wieder auf, deren eines aus dem Treubschen Laboratorium stammt, während das andere von Barker gesandt worden war. Dieses letztere ist eine neue, vom Verf. M. Barkeri benannte Art.

Barker hatte eine sexuelle Reproduktion beschrieben, die der Bildung der Perithecien voraufgehen und der von Harper bei Pyronema confluens beschriebenen sehr ähnlich sein sollte. Dangeard beobachtet in der Tat eine Fusion von Trichocyste und Antheridium, aber diese geschieht nur dann, wenn die Scheidewand, welche Trichocyste und Oogon trennt, sich gebildet hat. Folglich existiert keinerlei Verbindung zwischen Oogon und Antheridium, wie Barker gemeint hatte. Die Kerne von Antheridium und Trychocyste degenerieren, ohne in das Oogon einzudringen und sich mit den Kernen des letzteren zu verbinden, genau so wie Verf. es schon bei Sphaerotheca Castagnei beschrieben hatte.

Aus dem Oogon entstehen die Asken durch einfache Scheidewandbildung, nicht etwa durch Bildung von askogenen Hyphen, wie Barker gesagt hatte. Jede Mutterzelle des Asken besitzt zwei Kerne, die ineinander aufgehen wie bei den anderen Arten von Ascomyceten. Diese Kernfusion entspricht also einer Befruchtung, und das beim Auftreten der Perithecienbildung vorhandene Antheridium ist nur die Spur einer heute verschwundenen geschlechtlichen Reproduktion.

Guilliermond (Lyon).

Maire, R., Sur la division nucléaire dans l'asque de la Morille et de quelques autres Ascomycètes. (Compt. rend. de la Soc. de Biologie de Paris. 10 mai 1904. p. 822—824.)

Verf. hatte bei einer gewissen Anzahl von Ascomyceten vier Chromosome beobachtet und dachte, daß diese Zahl vielfach bei den Ascomyceten vorkäme. Unter anderem hatte er diese Zahl bei Pustularia vesiculosa gefunden, bei der Guilliermond acht angegeben hatte. Letzterer hatte die Zahl von acht Chromosomen bei mehreren Ascomyceten angetroffen. Verf. untersucht nun P. vesiculosa nochmals und findet im Gegensatz vier Chromosome. Er erklärt den Irrtum des letzteren durch das Vorhandensein von Protochromosomen zu Beginn der Prophase und durch gewisse Erscheinungen, welche die Metaphase darbietet. Die Chromosome verlängern sich in der Tat bei der Metaphase in gewundene Fäden, bei denen man jede Granulation als eine Einheit rechnen könnte.

Verf. untersucht gleichzeitig die Karyokinese bei Morilla, Peltigera canina und Hypomyces Thirxanus. Seiner Ansicht nach sind bei allen diesen Arten vier Chromosome vorhanden.

Guilliermond (Lyon).

Maire, R., Remarques sur la cytologie de quelques Ascomycètes. (Compt. rend. de la Soc. de Biologie de Paris. T. LVI. 1904. p. 86—87.)

Verf. findet bei Pustularia vesiculosa und bei Rhytisma acerinum dieselbe Anzahl von vier Chromosomen bei den Mitosen des Ascus wieder, welche er schon bei Galactinia succosa festgestellt hatte.

Bei Rhytisma winden sich die Fäden der Figur der dritten Teilung um die endgültigen Kerne und begrenzen somit acht ellipsoide Sporen, genau wie bei Pustularia und den von Harper untersuchten Arten.

Die Spore von Rhytisma verlängert sich hierauf; gleichzeitig wird ihr Kern spindelförmig. Die fadenartige Form der Sporen dieser

Gattung beruht auf einer Sekundärerscheinung, welche Verf. mit einem Auftreten von antizipierter Keimung vergleicht.

Guilliermond (Lyon).

Guilliermond, A., Contribution à l'étude cytologique des Ascomycètes. (Compt. rend. de l'Académie des Sciences de Paris, 30 novembre 1903.)

Verf. hat seine anfänglichen Untersuchungen über die metachromatischen Körperchen auf eine große Anzahl von Arten ausgedehnt. Diese Körperchen sind im Epiplasma der Ascomyceten sehr verbreitet; bei gewissen Arten finden sich jedoch an ihrer Stelle Oelkügelchen; einige Arten enthalten gleichzeitig beide Gebilde.

Das Epiplasma der meisten Ascomyceten weist auch Glykogen auf. Bei den Aleurieen und P. vesiculosa beobachtet man am oberen Teile der Asci einen Amyloidring. Im Gegensatz zu der allgemein angenommenen Ansicht, nach welcher dieses Amyloid als Reservestoff zu betrachten wäre, weist Verf. nach, daß es von einer Umbildung der Membran herrührt, die beim Aufspringen der Kapseldeckel eine Rolle spielt.

Verf. untersucht die Bildung der Asci, die sich bei den meisten Arten nach dem von Dangeard bei Peziza vesiculosa beschriebenen Vorgange vollzieht, mit Ausnahme einer Art, wo die Asci aus der oberen Zelle der aus zwei linearen binukleären Zellen bestehenden Fäden entstehen; die Kerne dieser Zelle verschmelzen und bilden den Ascus. Dieser Vorgang ist dem als Bildungsmodus der Basidien beschriebenen analog.

Verf. untersucht gleichfalls die Kernteilung bei den Mutterzellen der Asci. Sie geschieht durch eine Karyokinese analog derjenigen, welche Harper bei Aleuria cerea, Otidea onotica und Peziza catinus beschrieben hat. Bei Aleuria cerea scheinen acht Chromosome, bei P. Catinus gegen zwölf vorhanden zu sein. Bei diesen drei Arten grenzen sich die Sporen durch Zurückbiegen des Kinoplasmas nach dem von Harper beschriebenen Vorgang ab.

Bei Peziza rutilans beobachtet Verf. eine von den anderen sehr abweichende Karyokinese, bei der die Kernmembran von der Prophase an resorbiert wird. Es sind zwölf Chromosome vorhanden; diese Karyokinese nähert sich sehr den Karyokinesen der höheren Pflanzen.

J. Beauverie (Lyon).

Recht, E., Praktische Erfahrungen mit dem Somlóschen Verfahren. (Oesterreichische Brennereiztg. 3. Jahrg. 1905. No. 2.)

Verf. hat das Somlósche Maischverfahren seit Jahresfrist im Großbetrieb erprobt und skizziert die Beobachtungen, welche ihn zu der Erkenntnis führten, daß dieses Verfahren eine ganze Reihe von Vorteilen gewährt und daher eine mit Freude zu begrüßende Neuerung in der Spiritusindustrie darstellt. Die wesentlichsten Momente und Vorteile bestehen in der denkbar einfachsten Hefebereitung nebst absolut sicherer Hefeführung, in der Darstellung bakterienfreier Malzmilch, in den reinen Gärungen mit minimalster Säurezunahme, in der erhöhten (quantitativen und qualitativen) Ausbeute an Spiritus, in der Erzielung idealster Schlempequalität und in einer erheblichen Ersparnis an Kohlen.

Kausch (Charlottenburg).

Effront, J., Ueber die Wirkung der Amidosäuren auf Diastase. (Allgem. Brauer- und Hopfenztg. 45. Jahrg. 1905. No. 17.)

Verf. hat auf Grund eingehender Versuche festgestellt, daß die Amidosäuren eine günstige Wirkung auf die Diastase ausüben, und zwar zeigte sich diese günstige Wirkung bei allen natürlichen Stärkesorten. Dabei ist der Einfluß unabhängig von der Temperatur und dem Grade der Alkalität des Mediums. Kausch (Charlottenburg).

Grießmayer, Ueber das Verhalten der Eiweißstoffe bei der alkoholischen Gärung. (Allgem. Brauer- und Hopfenzeitung 45. Jahrg. 1905. No. 13.)

Verf. bespricht die Versuche Leonid Iwanoffs, welche Klarheit über die Beteiligung der Eiweißstoffe an der alkoholischen Gärung schaffen. Aus diesen geht hervor, daß bei dieser Gärung weder eine Spaltung noch eine Bildung von Eiweiß auftritt. Ferner zeigte es sich, daß die Vergärung des Zuckers — infolge Bildung antiproteolytischer Substanzen (Aldehyd und Ester) — einen entschieden hemmenden Einfluß auf die Eiweißzersetzung in der Hefe ausübt. Verschiedene Mittel, wie z. B. saure Phosphate, beseitigen die hemmende Wirkung der genannten Gärungsprodukte und beschleunigen die Proteolyse. Da nun derartige Stoffe in der Bierwürze enthalten sind, so findet in dieser eine Beschleunigung der Proteolyse statt, ein Faktum, welches Delbrück bereits früher festgestellt hat. Kausch (Charlottenburg).

Rosenstiehl, A., Ueber die Gegenwart von Lecithin im Weine. [Bemerkungen zu der Abhandlung der Herren Ortlieb und Weirich im Centralblatt für innere Medizin. 1904. p. 209.] (Centralbl. f. innere Med. 1904. No. 34.)

Verf. wendet sich gegen die Annahme Ortliebs und Weirichs, daß durch Pasteurisieren oder Sterilisation der Moste eine Lösung des Lecithins aus den Traubenkernen verhindert und dieser Bestandteil durch Erhitzen der Weine über 30° C zerstört wird. Er vertritt die Ansicht, daß das Lecithin des Weines nicht aus den Kernen, sondern aus den übrigen festen Bestandteilen der Trauben stammt, im Moste in Form einer Emulsion vorhanden ist und durch den bei der Gärung entstehenden Alkohol gelöst wird. Gegen die Annahme, daß das Lecithin durch das Pasteurisieren im Weine zerstört werde, führt er an, daß dasselbe nur in konzentrierter Form leicht zersetzlich sei, in verdünnter aber nicht. Dabei stützt er sich auf die Untersuchungen Bordas und Raczkowskis über das Verhalten des Lecithins bei der Erhitzung der Milch. Wird diese auf dem Wasserbade $^1/_2$ Stunde auf 95° C erhitzt, so beträgt der Lecithinverlust nur 12 Proz. Da das Lecithin im Weine beinahe in derselben Verdünnung wie in der Milch vorhanden ist, der Wein aber bei dem Rosenstiehlschen Pasteurisierverfahren kürzere Zeit weniger hohen Temperaturen ausgesetzt wird, dürfte auch der Verlust an Lecithin im Weine durch Pasteurisieren desselben ein nur geringer sein. Schander (Geisenheim).

Süchting, H., Die Assimilation des freien atmosphärischen Stickstoffs im toten Laub der Waldbäume. (Amtsblatt der Landwirtschaftskammer für Kassel, abgedruckt in Hannoversche Land- und Forstwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. 58. 1905. No. 3. p. 62.)

Der Verf. bespricht die Bedeutung der Versorgung unserer Wald-

bäume mit Stickstoff und der Aufspeicherung dieses wichtigen Pflanzennährstoffes in Waldbeständen auch an Orten, die als stickstoffarm anzusprechen sind. Nach Hinweis auf die Mykorrhiza und die eventuelle Beziehung ihres Auftretens zur Stickstoffernährung der Waldbäume werden die bekannten Henryschen Versuche mit abgestorbenem Eichen- und Hainbuchenlaub erwähnt und mitgeteilt, daß Arbeiten der Marburger Versuchsstation, die demnächst zu einem gewissen Abschluß kommen dürften, Näheres über die Mikroorganismen bringen, welche nach Ansicht Henrys und auch des Verfassers für die in abgestorbenem feuchten Laub beobachtete Stickstoffvermehrung die Ursache abgeben dürften. Es sind auf abgestorbenen Blättern verschiedener Waldbäume Bakterien aufgefunden worden, die mit Winogradskys Clostridium pastorianum nahe verwandt und den freien Stickstoff der Luft in erheblichem Maße in gebundene Form überzuführen im stande sind.

Paul Ehrenberg (Breslau).

v. Tubeuf, Infektionsversuche mit Uredineen. (Naturwiss. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. III. 1905. p. 41—46.)

1) Caeoma Abietis pectinatae infiziert Salix caprea und wird daher vom Verf. als Melampsora Abieti-Caprearum bezeichnet. Auch die umgekehrte Infektion gelang. Verf. ließ die auf Salix caprea (in der Natur) gebildeten Teleutosporen keimen und infizierte mit den Sporidien Weißtannen. Nach 1 Monat waren reichlich Caeoma-Lager gebildet. Salix grandifolia, S. cinerea, S. aurita, S. purpurea, S. alba und S. incana konnten durch Caeoma-Sporen nicht infiziert werden. Die durch künstliche Infektion auf Salix caprea erzielten Teleutosporenlager (sie traten nur spärlich auf) unterschieden sich von den in der Natur beobachteten dadurch, daß sie statt auf der Oberseite stets auf der Unterseite der Blätter entstanden.

2) Aecidium strobilinum infiziert, wie Verf. schon früher nachwies, Primus padus und erzeugt hier die Melampsora (Pucciniatsrum) Padi. Neuerdings fand nun Verf., daß auch Pr. serotina von den Sporen des Aecidium strobilinum infiziert wird (ebenso wie, nach E. Fischer, Pr. virginiana). Interessant ist, daß bei den künstlichen Infektionen (im umgekehrten Sinne) auch junge Triebe infiziert wurden, und sich hier sogar Aecidium-Becher bildeten, welche sonst nur an den Zapfen auftreten. Neger (Eisenach).

Solereder, H., Ueber Hexenbesen auf Quercus rubra, nebst einer Zusammenstellung der auf Holzpflanzen beobachteten Hexenbesen. (Naturwiss. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. III. 1905. p. 17—24. Mit 1 Abb.)

Verf. beschreibt einige auf einer Quercus rubra im Erlanger Schloßgarten beobachtete Hexenbesen, deren Ursache aber nicht ermittelt werden konnte. Die einzelnen Zweige sind sehr stark negativ geotropisch, wodurch die Hexenbesen ein besenförmiges Aussehen erlangen und sich wie kleine, selbständige, auf dem Tragast stehende Bäumchen ausnehmen.

Im Anschluß hieran gibt Verf. eine Zusammenstellung aller bisher auf Holzpflanzen beobachteten Hexenbesen (unter sehr sorgfältiger Berücksichtigung der bezüglichen Literatur) aus welcher folgendes zu entnehmen ist:

Aceraceae: Acer. tartaricum (Taphrina acerina = T. polyspora).
Amygdalaceae: Prunus avium und Pr. Cerasus (Exoascus Cerasi); Pr. chamaecerasus (Exoascus minor); Pr. domestica, insititia und pensylvanica (Exoascus Insititiae); Pr. pseudocerasus (Taphrina Pseudocerasus); Pr. spinosa (Ursache unbekannt).
Asclepiadaceae: Cynanchum nummulariaefolium (Puccinia Cynoctoni).
Berberidaceae: Berberis buxifolia (Aecidium Jacobothalii Henrici); Berberis vulgaris (Aec. von Puccinia Arrhenateri).
Betulaceae: Alnus incana (Exoascus epiphyllus); Betula nana (Exoascus nanus); B. odorata und B. pubescens (E. betulinus); B. verrucosa (E. turgidus).
Coniferae: Abies balsamea, cephalonica, Nordmanniana, pectinata, sibirica, Pinsapo (Aecidium elatinum); Larix decidua (Ursache ?); Larix occidentalis (Arceuthobium Douglasii); Libocedrus decurrens (Arceuthobium Libocedri); Picea alba und nigra (Arceuthobium pusillum); Picea excelsa (Ursache ?); Pinus cembra (Ursache ?); Pinus montana (Ursache ?); P. Murrayana Arceuthobium americanum, sowie andere H. auf der gleichen Wirtpflanze mit ? Ursache): Pinus ponderosa (Arceuthobium robustum); P. strobus (Ursache ?); P. silvestris (Ursache zum Teil ?, zum Teil auf Insektenfraß und dadurch veranlaßte Scheidentriebbildung zurückzuführen); Pseudotsuga Douglasii (Arceuthobium Douglasii); Taxodium distichum (Nectria sp.); Thuyopsis dolabrata (Caeoma deformans).
Cupuliferae: Carpinus betulus (Exoascus Carpini); Fagus silvatica (zum Teil durch Exoascus sp. verursacht); Quercus Ilex (Exoascus Kruchii); Quercus lobata (Exoascus quercus lobatae); Quercus rubra (Ursache ?).
Ericaceae: Calluna vulgaris (Eriophyden ?); Pernettya furens (Ursache ?).
Euphorbiaceae: Phyllanthus (?) (Ravenelia pygmaea).
Mimosaceae: Acacia armata (Ursache ?); A. cavenia (Ravenelia Hieronymi); Acacia etbaica (Aecidium Acaciae).
Myrtaceae: Myrtus ugni (Ursache ?); Myrtaceae aus verschiedenen Gattungen (Ustilago Vrieseana).
Oleaceae: Syringa vulgaris (Phytoptus Lowii).
Papilionaceae: Robinia pseudo-acacia (Ursache ?).
Pomaceae: Crataegus oxyacantha (Exoascus Crataegi); Pirus communis (? Pilz); P. malus (Ursache ?).
Rhamnaceae: Rhamnus Staddo (Puccinia Schweinfurthii).
Salicaceae: Salix-Arten (Phytoptus); Populus (Ursache ?).
Sapindaceae: Aesculus californica (Exoascus Aesculi).
Saxifragaceae: Ribes sanguineum (Ursache ?).
Solanaceae: Solanum cyrtopodium (Puccinia araucana); Solanum dulcamara (Eriophyes cladophthirus).
Sterculiaceae: Theobroma Cacao (Exoascus Theobromae).
Urticaceae: Broussonetia und Morus (Ursache ?); Celtis australis (Phytoptus); Ulmus campestris (Ursache ?).

Neger (Eisenach).

Wilfarth, H., Römer, H. und Wimmer, G., Ueber das Auftreten des Nachtschattens auf nematodenhaltigen Rübenfeldern. (Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. 1905. p. 1.)

Zahlreiche praktische Beobachtungen finden, daß zwischen dem Auftreten der Nematoden und dem Wachstum, bezw. dem Auftreten des Nachtschattens auf dem Felde ein gewisser Zusammenhang besteht. Wenngleich oft auf stark mit Nematoden durchsetzten Rübenfeldern keine Nachtschattenpflanze zu sehen ist, so kommt es doch sehr häufig vor, daß da, wo viel Nematoden zu finden sind, auch der Nachtschatten üppig gedeiht. Wiederholt kommt auch vor, daß auf üppig gedeihenden, im allgemeinen nematodenfreien Rübenfeldern sich ganz vereinzelte Nachtschattenpflanzen finden, und daß dann nur an den in unmittelbarer Nähe der letzteren stehenden Rüben Nematoden gefunden werden,

während die anderen Rüben frei davon sind. Diese sonderbaren, unter keinen Umständen nur zufälligen Erscheinungen müssen einen bestimmten Grund haben, es muß eine bestimmte Veranlassung vorliegen, welche den Nachtschatten hindert, sich auf nematodenfreien Rübenfeldern normal oder überhaupt zu entwickeln. Nematoden sind an den Wurzeln des Nachtschattens niemals zu finden, und sein üppiges Gedeihen gerade an den Nematodenstellen des Ackers läßt ja auch von vornherein darauf schließen, daß er keine der sogenannten Nematodenpflanzen ist. Da nun aber feststeht, daß die Nematoden den Zuckerrüben einen Teil der Nährstoffe entziehen und bei ihrem Entwickelungsprozeß auch jedenfalls ihrer Natur nach noch nicht erforschte Ausscheidungen in den Boden gelangen lassen, so könnten diese letzteren vielleicht besondere Reizwirkungen auf den Nachtschatten ausüben, eine Ansicht, welcher man wiederholt begegnet. Das Verhalten des Nachtschattens wird aber auch vielfach dahin erklärt, daß durch das Zurückbleiben der Rüben die aufgegangenen kleinen Nachtschattenpflanzen sehr bald Wachstumsbedingungen finden, die es ihnen ermöglichen, gerade hier sich kräftig zu entwickeln. Zur Aufklärung der Frage haben nun die Verfasser Topfversuche angestellt, welche in großen Glasgefäßen ausgeführt wurden, die mit einem Gemisch aus Sand und gereinigtem Torf gefüllt waren. Ein Teile der Töpfe war mit Sellerie, Möhre und Nachtschatten, der andere Teil mit diesen Pflanzen und Zuckerrüben bepflanzt; je zwei Töpfe jeder Reihe und blieben ungeimpft, je zwei erhielten eine Nematodenimpfung. Sellerie Möhre wurden darum gepflanzt, um festzustellen, in welcher Weise andere Pflanzen, die im allgemeinen nicht von Nematoden befallen werden, irgend welche Beeinflussung erleiden, wenn Nematoden im Boden vorhanden sind. Jeder Topf wurde mit Kali, Phosphorsäure und Stickstoff in Lösung und in fester Form der entsprechenden Salze gedüngt. Die Ergebnisse der Versuche auf Grund der Vegetationserscheinungen und chemischen Untersuchung werden eingehend besprochen und sei bezüglich Möhre und Sellerie hervorgehoben, daß diese Pflanzen für die Beurteilung der vorliegenden Frage kaum in Betracht kommen; für die Erniedrigung des Erntegewichtes sprechen Umstände mit, die noch nicht geklärt sind. Als Gesamtergebnis läßt sich feststellen, daß das Auftreten des Nachtschattens auf Nematodenfeldern in keinem direkten Zusammenhange mit der Wirkung der Nematoden steht, es sei denn, daß der Nachtschatten organische Ausscheidungsprodukte, wie sie offenbar bei der Wirkung der Nematoden auf die Rüben entstehen, zu seiner Ernährung mit Vorteil und besser als die Zuckerrüben selbst verwenden kann. Frühere Untersuchungen der Verfasser haben dargetan, daß auch durch Nematoden geschädigte Rüben den allgemeinen Ernährungsgesetzen folgen, daß sie überschüssige Nährstoffe aufnehmen, daß sie mangelndes Kali durch Natron zu ersetzen vermögen u. s. w., daß sie aber Nährstoffe, die nur in eben ausreichender oder ungenügender Menge vorhanden sind, nicht völlig auszunützen vermögen, da ein Teil dieser Stoffe wieder ausgeschieden und jedenfalls in schwer löslicher Form im Boden niedergelegt wird. Diese Stoffe — hauptsächlich Kalium — vermag die Rübe in derselben Vegetationsperiode nicht aufzunehmen, während dies jedoch beim Nachtschatten ohne weiteres der Fall war. Sollte diese Theorie noch einer Aenderung bedürfen, so bliebe allerdings kaum eine andere Annahme übrig, als daß der anspruchslose Nachtschatten, wenn er auf Rübenfelder gelangt, wo die Rüben durch Nematoden geschädigt werden, nur deshalb bessere Lebensbedingungen findet, weil dann von der Rübe

weniger Nährstoffe aufgenommen werden. Diese Bedingungen würden sich um so günstiger gestalten, je früher die Rüben von Nematoden befallen werden. Auf den vorliegenden Fall angewandt, können dann aber die Rüben in Verbindung mit den Nematoden keine schwer löslichen oder schwer zersetzbaren Kaliverbindungen ausgeschieden haben, was mit früheren Resultaten der Verfasser im Widerspruch zu stehen scheint. Daß gerade der Nachtschatten besser als andere Unkräuter hier gedeiht, liegt vielleicht daran, daß die Samen später aufgehen und so der Hacke entgehen, oder daß diese Pflanzen, selbst wenn die Rüben anfangs üppig gedeihen, sich trotz der Beschattung länger zu halten vermögen als andere Unkräuter, um dann, wenn der Nematodenschaden an den Rüben auftritt, zur vollen Entwickelung gelangen, wobei sie dann durch die Fähigkeit, schwer zersetzbare Verbindungen besser, als Zuckerrüben dies tun, aufnehmen zu können, unterstützt würden.

Stift (Wien).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Seligmann, E., Das Verhalten der Kuhmilch zu fuchsinschwefliger Säure und ein Nachweis des Formalins in der Milch. (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XLIX. 1905. p. 325.)

Der Formalinnachweis in Milch mittelst Schiffs Reagens, welcher als erbracht anzusehen ist, wenn bei Zusatz einer durch Natriumsulfit entfärbten Fuchsinlösung zu einem Destillat aus 100 ccm Milch eine violett-rote Färbung auftritt, ist zwar genau, aber zeitraubend und erfordert Laboratoriumsarbeit. S. stellte nun fest, daß die Eiweißkörper, vor allem das Kaseïn, in schwächerem Grade auch das Albumin, die „Fuchsinschwefligsäurereaktion“ der Milch bedingt und daß diese Eiweißkörper schon durch geringen Zusatz von Säuren oder konzentrierter Natronlauge dahin beeinflußt werden, daß sie die Reaktion nicht selber geben. Von dieser Eigenschaft macht S. Gebrauch zum Nachweis des Formalins in der Milch; er unterdrückt die Fuchsinreaktion der Milch durch Beeinflussung des Kaseïns durch Säurezusatz. Füllt man ein Reagenzglas mit 5 ccm Rohmilch und ein zweites mit 5 ccm Formalinmilch und setzt zu beiden 2—3 Tropfen verdünnter Schwefelsäure, sodann aber je 1 ccm durch etwas Natriumsulfit gerade entfärbte Fuchsinlösung, so erscheint nach 1—2 Minuten die Formalinmilch rötlich-violett gefärbt, die Rohmilch aber bleibt ungefärbt.

An Stelle der Schwefelsäure kann man auch eine andere Mineral- oder Oxalsäure benutzen. Die Probe ist sehr scharf und weist noch Formalin 1:40000 nach; bei letzterer Verdünnung tritt die Färbung allerdings erst nach etwa 1 Stunde auf. Schill (Dresden).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Nussbaum, H. Chr., Beiträge zur Bekämpfung der Holzkrankheiten. (Archiv f. Hygiene. 1905. p. 218.)

Verf. behandelt die Frage vornehmlich vom Standpunkt des Baumeisters, wobei er alle diejenigen Gesichtspunkte zusammenfaßt, welche

zur Vermeidung des Ueberhandnehmens der Hutpilze bei Baulichkeiten notwendig erscheinen. Von Interesse sind an vorliegender Stelle diejenigen Erörterungen, welche sich auf die Desinfektion der Krankheitsherde beziehen, wobei Verf. vorerst hervorhebt, daß eine Erkrankung des Holzwerkes durch Hutpilze nicht leicht zu beheben ist. Das Entfernen der als krank erkennbaren Teile des Holzwerkes reicht unter keinen Umständen aus, denn es ist unbedingt notwendig, von dem gesund erscheinenden Holzwerk noch mindestens auf 1 m Länge alles zu entfernen, was irgend mit dem erkrankten Holz in Verbindung gestanden hat. Handelt es sich um den Hausschwamm oder den Porenhausschwamm, dann müssen auch das nahe befindliche Mauerwerk, die Füllstoffe und andere porösen Körper sorgfältig untersucht werden, wobei die befallenen und morschen Teile zu entfernen sind, nachdem beide Arten auf weite Strecken in und an durchlässigen Körpern fortwuchern und sie zu zersetzen vermögen. Hierauf ist es notwendig, das noch etwa vorhandene feine Mycel und die Sporen der Hutpilze zu vernichten. Am sichersten geschieht dies durch Uebergehen der gesamten Teile und der Umgebung des Krankheitsherdes mit der Lötrohrflamme; dabei soll eine tunlichst hohe Erhitzung derjenigen Körper erfolgen, in welchen noch ein Pilzleben zu vermuten ist. Das Mycel stirbt bei 37° C ab, während die Sporen ausreichend geschwächt sind, wenn sie während einigen Minuten Temperaturen von 40° C ausgesetzt waren. Die Erhitzung kleinerer Holzteile u. dergl. läßt sich auch durch ihr Einlegen in die siedend heiße „Milch" von frisch gelöschtem Kalk erreichen. Von chemischen Mitteln hat sich Kreosotöl wohl als wirksames Vernichtungsmittel gegen Hutpilze erwiesen, doch ist dessen durchdringender Geruch für die Verwendung in Aufenthaltsräumen hinderlich. Zinkchlorid hat sich leidlich gut bewährt, während das ebenfalls geruchfreie Antinomin in seiner Wirkung als recht zweifelhaft zu bezeichnen ist.

Stift (Wien).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,
Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines.

Cats as conveyers af disease. (Teachers sanitary Bull. Vol. VII. 1904. N. 10. p. 88.)

Kleinschmidt, Ueber die Entstehung der Pflanzen- und Tierkrankheiten. [Schluß.] (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Sachsen. Jg. IX. 1905. Heft 6. p. 175—179.)

Lindner, Paul, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben, mit einer Einführung in die technische Biologie, Hefereinkultur und Infektionslehre. Für Studierende und Praktiker bearbeitet. 4. neubearb. Aufl. Berlin (Parey) 1905. VIII, 521 p. 8°. 257 Fig. u. 4 Taf. 19 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Beschreibung und Handhabung des Apparates zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen von Ernst Leitz, Optische Werkstätte in Wetzlar. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 7. p. 99—102.)

Neue Trichinenschau-Mikroskope. (Rundsch. a. d. Geb. d. Fleischbeschau. Jg. VI. 1905. N. 4. p. 75—77. 4 Fig.)

Systematik, Morphologie.

Baudouin, Marcel, Du mode de fixation dorsale du Lernaeenicus Sardinae sur son hôte. Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 5. p. 326—327.)

Beijerinck, M. W. et **van Delden, A.,** Sur les bactéries actives dans le rouissage du lin. (Arch. Néerland. des sc. exactes et nat. Sér. 2. T. IX. 1904. Livr. 4/5. p. 418—441. 1 Taf. u. 4 Fig.)

Briosi, G. e **Cavara,** I funghi parassiti delle piante coltivate ed utili. Pavia 1904. 8°.

Clinton, G. P., North American Ustilagineae. (Proc. Boston soc. nat. hist. XXI. 1904. p. 329—529.)

Daguillon, A., Sur une acrocécidie de Veronica Chamaedrys. (Rev. gén. de bot Vol. XVI. 1904. p. 257—265.)

Bysell, Adolf, Sind die „Culiciden" eine Familie? (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. IX. 1905. N. 2. p. 49—55.)

Feldmann, Ueber Filaria perstans im Bezirk Bukoba. 2. Teil. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. IX. 1905. N. 2. p. 62—65. 1 Taf.)

Fischer, Ed., Die Uredineen der Schweiz. Beitr. z. Kryptogamenflora d. Schweiz. Bd. II. 1904. Heft 2. XCIV, 591 p. 8°. Mit Fig. 16 M.

Praysse, A., Sur le parasitisme de l'Osyris alba. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXL. 1905. N. 5. p. 318—319.)

Gaehtgens, Walter, Der Bacillus jasmino-cyaneus und der Bacillus flavo-aromaticus, zwei neue farbstoffbildende Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 2. p. 129—131.)

Galzin, D., La Lenzites abietina saprophyte et les dégâts qu'elle peut occasionner. (Bull. Assoc. Vosg. hist. nat. 1904. p. 89—91.)

—, Du parasitisme des champignons basidiomycètes épixyles. [Forts.] (Bull. Assoc. Vosg. hist. nat. 1904. p. 81—87.)

Häyrén, E., Verzeichnis der aus Finnland bekannten Mucorineen. (Meddel. soc. faun. et flor. Fenn. 1902—03. Helsingfors 1904. p. 162 —164.)

Hollack, Johanna, Die Häufigkeit der Trematoden bei Rana esculenta Lin. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 2. p. 199—200.)

Klein, E., Ueber einen neuen tierpathogenen Vibrio — Vibrio cardii. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 2. p. 173—174.)

Magnus, P., Ein kleiner Beitrag zur Kenntnis der parasitären Pilze von Mitterfels in Niederbayern. (Naturw. Ver. Landshut. 1904. p. 1—3.)

Marino, F., Coloration des protozoaires et observations sur la neutrophile de leur noyau. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année VIII. 1904. N. 12. p. 761—766. 1 Taf.)

Mori, Nello, Ueber eine bei Katzen aufgetretene, durch einen besonderen Mikroorganismus bedingte Epizootie. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 2. p. 186—194.)

Olive, Edgar W., The morphology of Monascus purpureus. (Bot. Gazette. Vol. XXXIX. 1905. N. 1. p. 56—60.)

Penning, C. A., Les trypanosomes aux Indes Néerlandaises. (Janus. Année IX. 1904. p. 514—522. 2 Fig.)

—, Les trypanosomes aux Indes Néerlandaises. [Suite.] (Janus. Année X. 1905. p. 69 —78. Mit Fig.)

Sajó, Karl, Das Studium der schmarotzenden Insekten. (Prometheus. Jg. XV. 1904. p. 805 —808; p. 825—828.)

Ssilantjew, A. A., Zur Biologie und Systematik des türkischen Reben-Rüsselkäfers, Otiorhynchus turca Bohem. (Zool. Jahrb. Abt. f. System., Geogr. u. Biol. d. Tiere. Bd. XXI. 1905. Heft 4. p. 490—502. 8 Fig.)

Turconi, M., Sopra uno nuova specie di Cylindrosporium parassita dell' Ilex furcata Lindl. (Atti Istit. bot. Univ. Pavia. N. Ser. 1904. p. 4—6.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

Bertrand, G., Étude biochemique de la bactérie du sorbose. (Ann. de Chim. et de phys. Sér. 8. 1904. T. III. p. 181—288. 2 Fig.)

Fermi, Claudio und **Bassu, E.,** Weitere Untersuchungen über Anaërobiose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 2. p. 133—145. 13 Fig.)

Galli-Valerio, Bruno und **Rochaz-de-Jongh, Jeanne,** Ueber die Wirkung von Aspergillus niger und A. glaucus auf die Larven von Culex und Anopheles. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 2. p. 174—177. 2 Fig.)

Jaccard, P., Symbiose et parasitisme. 1. Les Mycorhiza et leur rôle dans la nutrition des essences forestières. (Journ. for. Suisse. LV. 1904. p. 21—38.)

Nestler, A., Zur Kenntnis der Symbiose eines Pilzes mit dem Taumelloch. (Sitzungsber. d. K. Akad. Wiss. Wien. 1904. 18 p. 1 Taf. Sep. Wien (Gerolds Sohn). 8°. 0,50 M.

Will, H., Ueber Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVIII. 1905. N. 7. p. 108—109.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Kompe, Karl, Die Trinkwasserversorgung und die Entwässerungs- und Abfuhranlagen, welche an im Gebirge gelegenen Badeorten erforderlich sind. (Dtsche Medizinal-Ztg. Jg. XXVI. 1905. N. 4. p. 33—34; N. 7. p. 69—71; N. 5. p. 45—47; N. 6. p. 57—59.)

Milch, Molkerei.

Brüning, Herm., Rohe oder gekochte Milch? (Münch. med. Wchnschr. Jg. LII. 1905. N. 8. p. 349—350.)

Hippius, Alexander, Biologisches zur Milchpasteurisierung. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LXI. 1905. Heft 2. p. 365—384. 4 Taf.)

Peter, A., Technisch-bakteriologische Versuche in der Emmenthaler Käserei. [Schluß.] (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. XV. 1905. N. 6. p. 61—63.)

Wein, Weinbereitung.

Delle, Ed., Les vins glucosés. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 11. p. 42.)

Semichon, Lucien, Les vins malades et la distillation. (Revue de viticult. Année XII. 1905. N. 582. p. 145—147.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Busch, Die Entwässerung der Stadt Göttingen unter besonderer Berücksichtigung der neuen Abwässer-Reinigungsanlage dortselbst. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. zu Berlin. 1905. Heft 5. p. 151—174.)

Deffernez, De l'épuration des eaux résiduaires industrielles. (Bull. de l'Acad. R. de méd. de Belgique. Sér. 4. T. XVIII. 1904. N. 11. p. 802—806.)

Ferrari, Pietro, Il servizio municipale di disinfezione in Milano. [Fine.] (Giorn. d. R. Soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 1. p. 19—41.)

German, Ueber Cyllin. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 2. p. 237—239. 1 Fig.)

Hensgen, Leitfaden für Desinfektoren. Anleitung zur Vernichtung und Beseitigung der Ansteckungsstoffe. 2. veränd. Aufl. Berlin (Schötz) 1905. VII, 77 p. 8°. 1,50 M.

Kausch, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. 1905. N. 4/5. p. 97—118. 14 Fig.)

Kirstein, Fritz, Leitfaden für Desinfektoren in Frage und Antwort. 2. verm. u. verb. Aufl. Berlin (Springer) 1905. 44 p. 8°. 15 Anlagen. 1,40 M.

Kolkwitz und **Thiesing, H.**, Chemisch-biologische Untersuchungen über die Verwendung der Rieselwiesen zur Reinigung des Talsperrenwassers für Genußzwecke. p. 130—150.

Marsson, M., Spitta, O. und **Thumm, K.**, Gutachten über die Zulässigkeit der Fäkalienabschwemmung der Stadt Hanau in den Main. (Mitt. a. d. k. Prüfungsanstalt f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitig. zu Berlin. 1905. Heft 5. p. 61—129.)

Proskauer, B., Abwässerbeseitigung in den Heilstätten. (Ber. üb. d. 2. Versamml. d. Tuberkulose-Aerzte. Berlin 24.—26. Nov. 1904. Berlin 1905. p. 22—26.)

Steuernagel, Die Cölner Kläranlage. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspfl. Jg. XXIV. 1905. Heft 1/2. p. 1—7.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Aderhold, Rud., Ueber den durch teilweise Zerstörung des Blattwerkes der Pflanze zugefügten Schaden. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 2. p. 13—17.)

An Orange Pest in Porto Rico. (Natal Agric. Journ. and mining Rec. Vol. VIII. 1905. N. 1. p. 14.)

Bärtschi, J., Die Krebskrankheit der Obstbäume und ihre Heilung. (Schlesw. Holstein. Ztschr. f. Obst- u. Gartenbau. 1904. p. 66—68.)

de la Bathie, P., Recherches sur la traitement de la pourriture grise. (Rev. Viticult. Vol. XXI. 1904. p. 433—438.)

Bezzi, M., Ancora le galle dell' Aronia. (Marcellia. Vol. III. 1904. p. 16—17.)

—, Brevi notizie sui ditterocecidii dell' America del Nord. (Marcellia. Vol. III. 1904. p. 131—147).

van Breda de Haan, J., Wortelziekte bij de peper op Java. (Teysmannia. 15. 1904. p. 367—376.)

Brizi, A., Il „mal del piede" del frumento e l'abbruciamento delle stoppie. (Avven. Agric. XII. 1904. p. 147—153.)

Brizi, U., Una malattia dell' Indivia (Cichorium Endivia). (Agric. mod. 1904. p. 32—33.)

Cugini, G., Una malattia del trifoglio (cancro di trifoglia). (Avven. agric. XII. 1904 p. 73—74.)

Ein Krebspilz an Bäumen und Sträuchern. (Der prakt. Landwirt. Jg. XXIV. 1905. N. 7. p. 79.)

Flögel, J. H. L., Monographie der Johannisbeeren-Blattlaus, Aphis ribis L. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. I. 1905. Heft 2. p. 49—63. 10 Fig.)

Froggatt, Walter W., The cotton-boll weevil. (Anthonomus grandis Boh.) A cotton pest that might bei introduced. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 1. p. 23—25. 2 Fig.)

Hellwig, Th., Zusammenstellung von Zoocecidien aus dem Kreise Grünberg in Schlesien. (Allg. Bot. Ztschr. Jg. 1904. p. 17—19; p. 50—56; p. 85—86; p. 155—157.)

Herrera, A. L., Comisión de Parasitol. Agricola. (Bol. secr. fomento. 2. ép. Mexico III. 1904. p. 761—766.)

Hooper, F., Ladybirds and their larvae. (Journ. of the Depart. of Agric. of Western Australia. Vol. X. 1904. P. 6. p. 468. 1 Taf. u. 6 Fig.)

Hubbard, William F. and **Chittenden, F. H.**, The basket willow. With a chapter on insects injurious to the basket willow. (U. S. Depart. of Agric. Bur. of forestry. Bull. N. 46. 1904. 100 p. 27 Fig.)

Hume, H. H., Anthracnose of the Pomelo. Bull. Agr. Exp. Stat. Jacksonville 1904. 12 p. 8°. 4 Taf.

Injury to trees by the green wood-pecker. (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. p. 693 —694.)

Johnson, T., Willow cancer 1. Physalospora (Botryosphaeria) gregaria Sacc. (Sc. Prov. R. Dublin soc. 1904. 14 p. 3 Taf.)

Koningsberger, J. C., Ziekten in Klapperaanplantingen. (Teysmannia XV. 1904. p. 502, 511. 1 Taf.)

Krasser, Fridolin, Das „Weinhackl". (Die Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 8. p. 85 —86. 4 Fig.)

—, Ueber eine eigentümliche Erkrankung der Weinstöcke. (Jahresber. d. Vereinig. d. Vertreter d. angew. Bot. Jg. II. 1903/1904, ersch. 1905. p. 73—84.)

Kusano, S., Parasitism of Siphonostegia chinensis Benth. (Bot. mag. Tokyo. XVIII. 1904. p. 144—145.) [Japanisch.]

Lohrenz, Kuno, Nützliche und schädliche Insekten in Garten und Feld. Anhang: Gesetz, betr. die Bekämpfung der Reblaus vom 6. VII. 1904. Halle (Gesenius 1905. VIII. 99 p. 8°. 250 Fig. 2,60 M.

Loos, Kurt, Lophyrus pini L. im Herbste 1904. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jg. XXXI. 1905. Heft 2. p. 60—64.)

McAlpine, D., Black spot Experiments 1903—1904. (Journ. Dept. agric. Victoria II. 1904. p. 761—767. 4 Taf.)

—, Diseases of cereals. (Journ. Dept. agric. Victoria II. 1904. p. 709—722. 2 Taf.)

Magne, G., Note sur le champignon filamenteux, endophyte des orchidées. (Journ. soc. nation. hort. France. Sér. 4. T. V. 1904. p. 426—430.)

Metz, E., Die Weizengallmücke, ein gefährlicher Weizenschädling. (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothr. Jg. XXXIII. 1905. N. 8. p. 131—132.)

Moore, R. A., Grain smut and its prevention. (Wisconsin agr. exp. stat. Bull. 1904. p. 1—10.)

Sandsten, E. P., Spraying fruit trees. With notes on the common Insects and fungus diseases infesting Orchards. (Wisconsin agr. exp. stat. Bull. 1904. p. 1—28.)

Sasaki, C., On the wax-producing Coccid, Ericerus pe-la, Westwood. (Bull. of the Coll. of Agric. Tokyo Imp. Univers. Vol. VI. 1904. N. 1. p. 1—14. 2 Taf.)

Schuster, Wilhelm, Die Reblausherde in Hessen-Nassau (von 1878 bis 1902). (Zool. Garten. Jg. XLV. 1905. N. 6. p. 184—186.)

Schuster, Ludwig, Der Pappelspinner (Leucoma salicis L.). (Zool. Garten Jg. XLV. 1904. N. 2. p. 65—68.)

Selby, A. D., Peach disease III. (Ohio agr. exp. stat. Bull. 1904. p. 55—67. 7 Taf.)

Sleepy disease of tomatoes (Fusarium lycopersici). (Journ. of Agric. of Western Australia. Vol. XI. 1905. P. 1. p. 25—26.)

Stewart, F. C. and **Eustace, H. J.**, Syllabus of illustrated lecture on potato diseases and their treatment. U. S. Depart. of agric. Washington 1904. 30 p. 8°.

The banded pine weevil. (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1905. N. 11. p. 686 —689. 2 Fig.)

The large brown pine weevil. (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1905. N. 11. p. 690—693. 5 Fig.)

Theobald, F. V., Injurious and beneficial slugs and snails. (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1905. N. 10. p. 594—602. 2 Fig.)

—, Injurious and beneficial slugs and snails. II. (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1905. N. 11. p. 650—658. Mit 1 Taf. u. Fig.)

Townsend, C. O., A soft rot of the Calla lily. (U. S. Depart. of agric. Bureau of plant industry. Bull. 1904. N. 60. 44 p. 9 Taf. u. 7 Fig.)

Trotter, A. e **Cecconi, G.**, Cicidotheca Italica, o raccolta di Galle Italiane determinate, preparate ed illustrate. Fasc. 9—12, aggiuntevi alcune specie della Colonia Eritrea e dell'Asia Minore. Avellino 1904. 4°. 100 specie essicate con testo.

v. Tubeuf, Die Uebernahme der pflanzenschutzlichen Einrichtungen der D. L.-G. auf eine Reichsanstalt. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1904. Heft 1. p. 24—38.)

—, Infektionsversuche mit Uredineen. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1904. Heft 1. p. 41—46. 8 Fig.)

Ueber die Verbreitung der Reblaus in Oesterreich in den Jahren 1902 und 1903. (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 7. p. 77—78; N. 8. p. 88—90.)

Van Hook, J. M., Some diseases of Ginseng. (Cornell Univers. Agron. Exp. Stat. Bull. 1904. N. 219. p. 168—186.)

Viala, P. et **Pacottet, P.**, Recherches sur les maladies de la Vigne. 1. u. 2.: Anthracnose. Black-Rot. (Revue Viticult. Paris 1904. 16 u. 17 p. M. Taf. u. Fig.)

Wahl, Bruno, Eine merkwürdige Blattlaus auf Ahornbäumen (Chaitophorus testudinatus Thornton). (Ztschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VII. 1904. Heft 11. p. 793—796. 1 Fig.)

—, Die Hessenfliege oder der Getreideverwüster. (Oesterr. landwirtsch. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 50. p. 395—396.)

—, Die Fritfliege. (Mitt. d. k. k. Pflanzenschutzstat. Wien. 1. Flugbl. 1905. abgedr. in Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXI. 1905. N. 8. p. 64. 1 Fig.)

Wilfarth, H., Römer, H. und **Wimmer, G.**, Ueber das Auftreten des Nachtschattens auf nematodenhaltigen Rübenfeldern. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschen Zucker-Industrie. Lief. 588. 1905. p. 1—19. Mit Fig.)

Wine rot of vines (Coniothyrium diplodielia): (Journ. of the board of agric. Vol. XI. 1904. N. 7. p. 434.)

Winkler, J., Der Malvenpilz. (Gartenwelt. Jg. VIII. 1904. p. 473—475.)

Zang, Wilhelm, Die Obstfäule. (Dtsche Landw. Presse. Jg. XXXI. 1904. N. 97. p. 810—812.)

Zur Hausschwammfrage. (Neue Forstl. Blätt. Bd. XIV. 1904. p. 81—82; 89 - 90; 97—99 105—107.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Bannert, Die Bekämpfung der Brandwurzelkrankheit der Rüben. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXII. 1905. N. 14. p. 107—108.)

Berlese, Antonio, Proposte di sperimenti contro la mosca delle olive (Dacus oleae Fbr.). (Atti d. R. istit. d'incoraggiamento di Napoli. Ser. 5. Vol. V. 1904. N. 3. 9 p.)

Cantin, G., Sur la destruction de l'œuf d'hiver du Phylloxera par le lysol. (Compt. rend. Acad. sc. T. CXXXIX. 1904. N. 26. p. 1232—1233.)

Cercelet, Traitement préventif contre les Pyrales. (Rev. de viticult. Année XII. 1905. N. 582. p. 154—156.)

Colucci, Alf., Insetti nocivi alla frutticultura e mezzi per distruggerli conferenza. Melfi (tip. Liccione) 1904. 44 p. 8°.

v. Czadek, O., Ein Mittel zur Bekämpfung des Rosenrostes. (Oesterr. Landw. Wchnbl. Jg. XXXI. 1905. N. 7. p. 52.)

Deschamps, A., Traitement contre la Pyrale et la Cochylis. (Rev. de viticult. Année XII. 1905. N. 583. p. 186—189.)

Hiltner, L., Bericht über die im Frühjahr 1904 im Benehmen mit der k. Agrikultur-botanischen Anstalt in Bayern durchgeführten Hederichbekämpfungsversuche. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 1. p. 1—8; Heft 2. p. 17—21. 6 Fig.)

Horst, H., Zur Heuwurmbekämpfung. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXII. 1904. N. 53. p. 497.)

Köck, G., Chemische und mechanische Mittel bei Bekämpfung landwirtschaftlicher Schädlinge. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 46. p. 363—364.)

Langenbeck, Ernst, Pflanzenschutz. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LIV. 1905. Heft. 4. p. 132—136.)

Lounsbury, P., Natural enemies of the fruit fly. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. XXVI. 1905. N. 1. p. 84—87.)
—, Natural enemies of the fruit fly. (Natal Agric. Journ. and mining Rec. Vol. VIII. 1905. N. 1. p. 40—43.)
Mitteilung der k. Agrikultur-botanischen Anstalt über die Bekämpfung des Unkrauts. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 2. p. 21—22.)
Molz, Jena, Die Selektion im Dienste der Reblausbekämpfung. (Dtsche landw. Presse. Jg. XXXII. 1905. N. 17. p. 144—145.)
Möller, A., Ueber die Notwendigkeit und Möglichkeit wirksamer Bekämpfung des Kiefernbaumschwammes Trametes Pini (Thore) Fries. Berlin (Springer) 1904. 39 p. 8°. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen.) 2 M.
Muth, Fr., Zur Bekämpfung des Heuwurms durch Oele. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIII. 1905. N. 1. p. 2.)
Sajo, Karl, Die neuesten Fortschritte auf dem Gebiete der Bekämpfung der Apfelmotte. (Prometheus. Jg. XV. 1904. p. 316—318, 693—695.)
Scheidemann, Ulrich, Die Bekämpfung der Wanderheuschrecke in Rumänien. (Mitt. d. Dtsch. Landw. Ges. Beil. N. 3. zu Stück 4. 1905.)
Schmidt, Abwehr schädlicher Forstinsekten. (Forstwissenschaftl. Centralbl. Jg. XXVII. 1905. Heft 2. p. 90—93.)
Sorauer, Paul und **Rörig, Georg**, Pflanzenschutz. Anleitung für den praktischen Landwirt zur Erkennung und Bekämpfung der Beschädigungen der Kulturpflanzen. Im Auftrage der deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft, Sonderausschuß für Pflanzenschutz, bearb. 3. verb. Aufl. VII, 201 p. 8°. 7 Farbentaf. u. 58 Fig. 3 M.
Specific for fruit fly. (Natal Agric. Journ. a. mining Record. Vol. VII. 1904. No. 9. p. 883.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung:

Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

●●●● Referate ●●●●

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler, Prof. Dr. R. Pfeiffer, Prof. Dr. M. Braun
Greifswald Königsberg i. Pr.

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XXXVI. Band. —— Jena, den 2. März 1905. —— No. 6/7.

Preis für den Band (26 Nummern) 15 Mark. — Jährlich erscheinen zwei Bände.

Inhalt der erschienenen No. 6/7 der ersten Abteilung.

Ausgegeben am 2. März 1905.

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Inhalt der erschienenen No. 8|9 der ersten Abteilung.

Ausgegeben am 20. März 1905.

Zusammenfassende Uebersichten.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 50, Schaperstr. 2/3 I

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XIV. Bd. Jena, den 20. April 1905. **No. 12/13.**

Inseratenannahme durch Max Gelsdorf, Leipzig-Gohlis. — Buchhändleranzeigen durch die Verlagshandlung erbeten.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 12|13.

Beitrag zur Identifizierung und Beschreibung von Clostridium Polymyxa Prazmowski.

[Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen zu Kiel (Vorstand: Professor Dr. Weigmann).]

Von Dr. **Th. Gruber.**

Mit 3 Tafeln.

Bei der Prüfung über die bactericide Wirkung der verschiedenen Systeme von Pasteurisierapparaten mußte selbstverständlich an die pasteurisierte Milch die notwendige Anforderung zu stellen sein, wie lange sie haltbar ist. Zu diesem Zwecke wurde die erhitzte Milch in sterilen Erlenmeyer-Kolben bei 18—22° aufbewahrt, um die Zeit der Zersetzungserscheinungen festzustellen. Es fiel nun auf, daß eine Zeitlang die Zersetzung immer dasselbe Bild aufzuweisen vermochte; zuerst trat eine glatte, gleichmäßige Gerinnung mit sauerer Reaktion ein, das koagulierte Kaseïn zog sich dann immer mehr und mehr zusammen, es entstand ein kompakter, zäher Kuchen, in dem viele Gasblasen sich einstellten und der bald auf dem wässerigen, hellen Serum schwamm. Welches sind nun die Erreger dieser charakteristischen Zersetzung?

Die aëroben Plattenkulturen führten nicht zum Ziele, einerseits waren nur sehr wenige Kolonieen zur Entwickelung gelangt, andererseits brachten diese Kolonieen die erwähnte spezifische Erscheinung in steriler Milch nicht hervor; da nun die Aërobiose versagte, war der nächstliegende Gedanke, hier können fakultative oder obligate Anaërobier in Tätigkeit gewesen sein. Von diesem Gedanken geleitet, wurden von dem Serum und dem zähen Kaseïnkuchen aliquote Teile in Bouillon fein verteilt, hierauf diese Aufschwemmung eine Minute bei 98° erhitzt; die erhitzte Bouillon lieferte das Ausgangsmaterial für die anaëroben Schüttelkulturen, es waren dies Milchzuckeragarröhrchen in hoher Schicht, drei Verdünnungen wurden jeweils wie zur aëroben Plattenkultur angelegt. Die Schüttelkulturen zeigten nach mehreren Tagen bei einer Bebrütung von 34° eine Unmenge von Kolonieen, die alle ein und derselben Bakterienart angehörten und die alle in steriler Milch die charakteristischen Zersetzungen hervorbrachten. Bei der Identifizierung der isolierten Bakterie mußte nach den Beschreibungen von Prazmowski, Flügge und Migula dieselbe als Clostridium Polymyxa Prazmowski angesprochen werden; die Abhandlung von Prazmowski ist durchgängig botanischer Natur, von rein bakteriologischen Gesichtspunkten aus ist bis jetzt noch keine eingehendere Beschreibung erfolgt, deshalb sei im folgenden das bis jetzt Fehlende ergänzt.

10-proz. Gelatineplattenkulturen bei 16—22° C.

Makroskopisch bemerkt man nach 3 Tagen kleine, runde, pünktchenförmige, grauweiße Tiefenkolonieen, ein Traubenzuckerzusatz und in etwas geringerem Maße Milchzucker begünstigt die Intensität des Wachstums; mikroskopisch erscheinen die kleinen Tiefenkolonieen in jungem Zustande völlig rund, glattrandig, schwarz konturiert und grob gekörnt, an weiter

fortgeschritteneren treten am Rande kleine, runde Schwärmer auf. Am 4. Tage haben einige der Tiefenkolonieen die Oberfläche erreicht, sie breiten sich flach aus, sind häutchenartig, grauweiß, durchsichtig, glänzend und im durchfallenden Lichte bläulich schimmernd. Bei 80facher Vergrößerung ähneln diese Oberflächenkolonieen im Inneren denjenigen von Bacillus thyphosus, am Rande sind sie unregelmäßig gelappt und gebuchtet. Nach einigen Tagen tritt um die Kolonieen herum Verflüssigung der Gelatine ein.

10-proz. Gelatine-Tupfkolonieen bei 16—22° C.

Die Tupfkolonieen auf traubenzuckerhaltigem Nährsubstrate sind auch hier an Größe denen auf gewöhnlicher wie Milchzuckergelatine voraus; nach 3 Tagen findet man an den betupften Stellen blattartig gefaltete und gebuchtete, flache, in der Mitte eingesunkene, grauweiße, glänzende, zähe, etwas fadenziehende, bis 0,5 cm große Kolonieen vor, die eine wellige Struktur mit bloßem Auge erkennen lassen; mikroskopisch besteht die wellige Struktur aus feinen, bald mehr oder minder dicht nebeneinanderliegenden Linien, der Rand der Kolonie ist scharf abgegrenzt und an einzelnen Stellen deutlich gekörnt. Die Kolonieen auf gewöhnlicher 10-proz. Nährgelatine sind um dieselbe Zeit sehr klein, aber schon mit einer deutlichen Verflüssigungszone umgeben, bei 80facher Vergrößerung dringen vom Rande der Kolonie resp. der Verflüssigungszone in die noch nicht peptonisierte Gelatine kurze, feine Fäden, so daß die verflüssigte Kolonie gleichsam mit einem Kranze solcher Fäden umgeben ist und mithin den Kolonieen von Bacillus subtilis ähnlich erscheint. Nach 6 Tagen sind einzelne Ausläufer makroskopisch sichtbar, bei schwacher Vergrößerung erscheinen sie wurmartig geringelt, an den äußeren Enden verdickt. (Fig. 1 schwache Vergrößerung.)

Traubenzucker-Agar-Plattenkolonieen bei 34° C.

Innerhalb 48 Stunden wachsen bis 3 mm im Durchmesser fassende, kreisrunde, in der Mitte stark erhabene, gegen den Rand zu sich abstoßende, glänzende, grauweiße, schleimige und fadenziehende Oberflächenkolonieen heran, die mikroskopisch homogen gekörnt, am Rande durchscheinend sind und sich allmählich im Agar verlieren; die Tiefenkolonieen verhalten sich ähnlich, nur ist der Rand zerfressen, über einzelnen Tiefenkolonieen haben sich Gasblasen eingefunden. Fällt ein Tropfen Kondensationswasser auf eine Oberflächenkolonie, so entstehen dieselben wie unter Agartupfkolonieen angegebenen moosartigen, polypenartigen Gebilde. Später nehmen die Oberflächenkolonieen konzentrische Schichtung an und scheinen im Agar hinzukriechen.

Agar-Tupfkolonieen bei 34° C.

Schon innerhalb 15 Stunden gehen von den betupften Stellen nach allen Richtungen Ausläufer aus, so daß einzelne Kolonieen spinnenartig aussehen, andere wieder mehr den Kolonieen von Bacillus mycoides ähneln, nur sind die Lamellen breiter und flacher als die Ausläufer des Wurzelbacillus. Die weitere Aufbewahrung während 24 Stunden bei genannter Temperatur gab den Kolonieen das Aussehen wie Abbildung No. 2 (natürliche Größe). Im Innern der Kolonieen haben die radial verlaufenden Lamellen an Breite kaum zugenommen, an den Enden hingegen sind sie, keulenförmig angeschwollen und deutlich gewölbt; sie sind grauweiß, glänzend, von zäher Konsistenz und fadenziehend. Ein Milchzuckerzusatz begünstigt sehr die Intensität des

Wachstums, Traubenzucker scheint auf diesem Nährsubstrate nicht die günstigen Wachstumsbedingungen wie in Gelatine zu erfüllen.

Ein Klatschpräparat einer 18 Stunden alten Milchzuckeragarkolonie zeigt schlanke Stäbchen mit parallelen Seiten und abgerundeten Enden; die Breite eines Individuums ist ziemlich konstant 0,6 μ, die Länge hingegen variiert zwischen 3,50 und 7,00 μ. Im hängenden Tropfen sind nur einzelne wenige Stäbchen mit deutlicher Bewegnng versehen. Der Nachweis von Cilien ist verhältnismäßig schwer zu erbringen, da immer nur wenige Individuen beweglich sind und dies nur zu einer bestimmten Zeit. Eine lange Beizung bei 66—70° nach Zettnow machte die am ganzen Körper verteilten Geißeln deutlich sichtbar (Fig. 3, 925facher Vergrößerung)

Nach 39 Stunden im Brutschrank waren meistens nur noch freie Sporen vorhanden im Ausmaße von 3,50 : 1,75 μ.

Eine Temperatur von 16—22° C beeinträchtigt das Wachstum sehr, die Kolonieen bleiben verhältnismäßig klein, nach dreitägigem Stehen erscheinen die Kolonieen wie in Fig. 4 (nat. Größe). Die einzelnen Lamellen sind flach und viel breiter wie bei hoher Temperatur, am 5. Tage tritt die keulenförmige Endschwellung wieder deutlich hervor, sie sind schleimig und fadenziehend, zähe, grauweiß und glänzend. Im durchfallenden Lichte besitzen die einzelnen Lamellen und Ausläufer deutliche Schichtung, eine dunklere, innere Partie und einen schmalen, hellen Saum, der alle Lamellen gleichmäßig umgibt. 24 Stunden alte Tupfkolonieen sind auf gewöhnlichem Agar bei 34° kaum sichtbar, es entwickeln sich um die betupfte Stelle herum dünne, durchsichtige, helle, grauweiße, flache, radiär gestellte Lamellen, das Wachstum auf gewöhnlichem Agar bei 34° ist bedeutend hinter dem auf Milch und Traubenzuckeragar zurück.

Bouillonkultur bei 34° C.

Innerhalb 24 Stunden tritt in Traubenzuckerbouillon die stärkste Trübung und Gasentwickelung auf, gewöhnliche und Milchzuckerbouillon zeigen die Trübung eventuell Gärung weniger. Die Länge der Bakterien um diese Zeit variiert sehr, von 1,75—7,00 μ, die Breite ist gleichmäßig 0,45 μ (Fig. 5, 925fache Vergrößerung). Nach 2—3 Tagen schwimmen kleinere und größere Bakterienhäutchen in der Bouillon umher, die teils nach oben streben und eine die Oberfläche bedeckende Haut, oder nach unten sinken und ein sehr schleimiges, fadenziehendes, grauweißes Sediment bilden, welche Eigenschaften auch die Oberflächenhaut besitzt. In dieser Haut nur, also nur bei unmittelbarem Kontakt mit dem Sauerstoff der Luft, erreichen die Stäbchen eine Sporulation, die Stäbchen bauchen sich spindelartig, clostridiumartig (Fig. 6, 925fache Vergrößerung) auf, die Sporen selbst sind zentral oder polar, am 6. Tage ist die Sporulation bei 34° schon häufig anzutreffen. Die Bouillon wird immer trüber durch die sich immer anhäufenden Zooglöen. Ein Färbepräparat von 14 Tage alten Kulturen zeigt unter regelmäßigen Stäbchen manchmal längere Fäden bis 8,75 μ bei einer Breite von 0,45 μ, ferner keimschlauchartige Gebilde neben zahlreichen freien Sporen.

15-proz. Gelatinestrichkultur bei 18—22° C.

Im großen und ganzen ist das Wachstum langsam und gering; um die Stichöffnung bildet sich nach 5 Tagen eine kleine, weiße, etwas matte und trockene Auflagerung, nach 10 Tagen ist dieselbe eingesunken unter

Bildung einer schalenförmigen Verflüssigung, die nach 4 Wochen eine Tiefe von 1 cm erreicht und sich gleichmäßig horizontal bis an den Glasrand hin ausdehnt; die verflüssigte Gelatine ist klar und stark fadenziehend. Clostridium-Formen sind in dieser 4 Wochen alten Kultur nicht vorhanden. Das Wachstum im Kanal ist im Vergleich zum Oberflächenwachstum am 5. Tage stark entwickelt, kleinere, runde, weiße Kolonieen reihen sich längs des Stiches perlschnurartig aneinander.

In Milchgelatine tritt die Peptonisierung der Gelatine schon am 2. Tage wie in Form eines Trichters auf, später sammeln sich Gasblasen im Kanal.

15-proz. Gelatinestrichkultur bei 18—22° C.

Längs des Stiches entsteht nach 4 Tagen ein dünner, flacher, grauweißer, nicht besonders breiter Streifen, 24 Stunden später erfolgt Peptonisierung der Gelatine. Ein Färbepräparat zeigte auch hier wieder, daß sich die Stäbchen nur bei Luftzutritt zur Sporulation anschicken wie in der Oberflächenhaut der Bouillonkultur.

3-proz. Milchzuckeragarstich in hoher Schicht bei 34° C.

Innerhalb 24 Stunden bemerkt man längs des Stiches ein intensives, aber nicht charakteristisches Wachstum; durch Gasbildung ist der ganze Nährboden in Stücke gerissen, ein Oberflächenwachstum ist selbst nach 14 Tagen nicht vorhanden.

Agar mit 10-proz. Magermilch bei 18—22° C.

Nach 14 Tagen findet an einigen Stellen intensive Auflösung des suspendierten Kaseïns statt.

Nährboden: Chlornatrium, Pepton āā 1,0 Aq. dest. 100.

Eine schwache Trübung beginnt nach 5 Tagen bei 34°; nach 8 Tagen ist kein Indol nachweisbar. In einem weiteren Nährmedium, das außer der erwähnten Zusammensetzung noch 1 Proz. Kaliumnitrat enthält, findet keine Reduktion zu Nitrit statt.

Kartoffelkultur.

Schmale, dünne, grauweiße Streifen sind nach 15 Stunden bei 34° an den geimpften Stellen entstanden, die mit der Zeit an Breite und Dicke immer mehr zunehmen und später eine schmutzigweise Farbe und krümelig breiige Konsistenz aufweisen. Am 7. Tage sind in dem Färbepraparat lange Fäden von 26,25—61,25 μ Länge, manchmal noch längere, neben sehr vielen abgestorbenen Individuen zu bemerken, sämtliche Bakterien und Fadengebilde sind granuliert. Bei 14-tägiger Bebrütung bei 34° sind die Belagsstreifen mit Gasblasen durchsetzt, die Farbe spielt mehr ins Crêmeartige, die Konsistenz ist zäher und trockener, Sporulation ist um diese Zeit sehr reichlich, die freien, ausgebildeten Sporen besitzen das Verhältnis 2,6 : 1,75 μ.

Sterile Magermilch bei 32—34° C.

Nach 48-stündigem Aufenthalte im Brutschranke entwickelt sich reichlich Gas, man nimmt einen angenehmen aromatischen Geruch wahr; nach 3 Tagen ballt sich das Kaseïn immer mehr zusammen, es entsteht ein fest zusammenhängender, mit Gasblasen durchsetzter Kuchen, der auf dem klaren Serum schwimmt. Die Reaktion bleibt immer stark sauer.

Einwirkung von Clostridium, Polymyxa auf verschiedene Zuckerarten.

Das Nährmedium bestand aus Hefenwasser mit 3 Proz. des betreffenden Zuckers oder Süßstoffes. Das Hefenwasser wurde auf folgende Weise hergestellt: 70 g stärkefreier Preßhefe wird mit 1000 ccm destilliertem Wasser fein zerrieben, alsdann 15 Minuten bei 98° gekocht, dann erkalten und absitzen lassen, hierauf durch Tonfilter filtriert, schwach alkalisiert, abgefüllt und 10 Minuten bei 121° sterilisiert, nach der Sterilisierung und Zusatz der Zuckerart titriert.

1) Hefenwasser mit 6 Proz. Milchzucker bei 34°. Nach 2 Tagen Trübung; 100 ccm der Zuckerlösung erfordern 3,5 $\frac{n}{4}$ NaOH, nach 7 Tagen 3,9 $\frac{n}{4}$ NaOH, eine weitere Säuerung trat nicht mehr ein.

2) Hefenwasser mit 3 Proz. Mannit bei 34°. Innerhalb 49 Stunden starke Trübung; nach 8 Tagen beanspruchen 100 ccm der Lösung 6,2 $\frac{n}{4}$ NaOH.

3) Hefenwasser mit 3 Proz. Raffinose bei 34°. Nach 8-tägiger Aufbewahrung starke Trübung, 100 ccm verlangen 3,8 $\frac{n}{4}$ NaOH.

4) Hefenwasser mit 3 Proz. Maltose, 8 Tage bei 34° bewirkt, eine Trübung; 100 ccm dieser Lösung beanspruchen 3,4 $\frac{n}{4}$ NaOH zur Sättigung.

5) Hefenwasser mit 3 Proz. Arabinose bei 34°. Nach Verlauf von 8 Tagen bleibt die Flüssigkeit ungetrübt, 3,6 $\frac{n}{4}$ NaOH sind notwendig zur Neutralisation von 100 ccm Lösung.

6) Hefenwasser mit 3 Proz. Galaktose bei 34°. Innerhalb 48 Stunden bemerkt man hier schon starke Trübung; 100 ccm einer 8 Tage alten Kultur beanspruchen 2,6 $\frac{n}{4}$ NaOH.

7) Xylose in Hefenwasser erleidet keine Trübung; 2,8 $\frac{n}{4}$ NaOH sind zur Sättigung von 100 ccm Lösung nötig.

8) Hefenwasser mit 3 Proz. α-Methylglykosid, 8 Tage bei 34° bewirken eine starke Trübung; zur Sättigung von 100 ccm werden 4,2 $\frac{n}{4}$ NaOH beansprucht.

9) Lävulose wird nicht zersetzt, obwohl starke Trübung eintritt.

10) Rohrzucker erleidet unter Gasbildung eine Vergärung; das an sich nur schwach gelblich gefärbte Hefenwasser wird innerhalb 8 Tagen bei 34° intensiv opalisierend getrübt, am Glasrande haben sich gallertartig aussehende, sehr schleimig und fadenziehende, grauweiße Zooglöen angesiedelt, die Flüssigkeit selbst ist nicht fadenziehend, aber dickflüssig.

Granulosebildung bei Clostridium Polymyxa.

Prazmowski gibt in seiner Abhandlung[1]) an, daß er in den an-

1) Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und die Formentwickelung einiger Bakterienarten. Leipzig 1880. p. 37.

geschwollenen Stäbchen von Clostridium Polymyxa, wenn dieselben in amylumhaltigem Nährsubstrate gezüchtet waren, mit Jod Blaufärbung erzielte. Da sich nun über diese Granulosebildung die Ergebnisse verschiedener Forscher nicht decken, war es angebracht, festzustellen, ob die oben beschriebene Bakterie Granulose intussuszeptiere oder nicht. Zur Kultivierung kamen natürlich nur stärkemehlhaltige Nährsubstrate in Frage. Kartoffelkulturen führten zu keinem Ziele, die sporulierenden sowie die rein vegetativen Formen nach 48-stündiger Bebrütung bei 16—20—34° C und nach längerer Beobachtung bis zu 3 Wochen färbten sich mit der Lugollschen Lösung nur schwach gelb und zwar im ganzen Bakterienleibe. (Zusammensetzung der Lugollschen Lösung Jodi pur. 1,0, Kal. jodati 2,0, Aq. dest. 100,0, mit 3—4, eventuell mit noch mehr Teilen Wasser zu verdünnen.) Sehr geeignet zur Aufspeicherung von Granulose war ein stärkemehlhaltiger Agar (2,0 Amylum, 2,0 Agar-Agar, 100,0 ccm Aq. fontan.), der nach der Sterilisation neutrale Reaktion zeigte und der ferner auf je 100 ccm mit 2, 5, 7, 10 Tropfen einer $\frac{n}{4}$ NaOH-Lauge alkalisiert wurde. Nach 8-tägiger Aufbewahrung bei 16—20° waren in dem angefertigten Deckglaspräparate von dem neutralen Agar Clostridium-artige Individuen, ferner solche mit Paraplectrum-Formen vorhanden, die mit Lugollscher Lösung deutliche Blaufärbung zeigten und zwar immer in den Sporenanfängen, sowie in fertig gebildeten Sporen innerhalb des Bakterienleibes. In der Agarkultur (es handelt sich hier immer um Strichkulturen), die 8 Tage bei 34° gehalten wurde, war der ganze Nährboden mit Gasblasen durchsetzt, Granulosebildung war nicht vorhanden, der Nährboden selbst färbte sich mit Jod auch nicht mehr blau; das Amylum ist in Maltose und Dextrose übergeführt worden.

Die mehr oder minder stark alkalisierten amylumhaltigen Agarstrichkulturen bei 16—20° und bei 34° besaßen keine Regelmäßigkeit bezüglich der Granulosebildung, sie trat bald früher, bald später, manchmal überhaupt nicht, bald stärker, bald schwächer auf; wenn aber die Reaktion eintrat, waren es immer die Sporenanfänge und die fertig gebildeten Sporen in den Clostridium- und Paraplectrum-Formen.

Längs des Agarstriches entwickelten sich überall mehr oder minder starke, kleisterartige Bakterienauflagerungen.

Von den flüssigen Nährsubstraten war folgendes zur Beobachtung der Granulosebildung sehr zweckdienlich: Magnes. sulfuric., Natr. phosph., Kal. chlorat. āā 0,05, kohlensaurer Kalk 3,0, Amylum 2,0 Aq. dest. 100.

Die Intensität der Zooglöenbildung, überhaupt das ganze Wachstum zeigte obiger Nährboden, wenn auf 10 ccm 10 Tropfen $\frac{n}{4}$ NaOH zugefügt waren. Vierzehntägiger Aufenthalt bei 16—20° ließ auf der Flüssigkeitsoberfläche eine dicke, kleisterartige, mit Gasblasen durchsetzte Haut entstehen, in der zahlreiche Clostridien und Paraplektren sich vorfanden, die wieder in den Sporenanfängen wie in fertig gebildeten, noch eingeschlossenen Sporen mit Jod sich intensiv blau färbten.

Peptonbouillon mit 2 Proz. Amylum eventuell mit Trauben- oder Milchzuckerzusatz konnte nicht verwendet werden, da hier bald die Stärke in Zucker umgesetzt war.

Die Beobachtung Prazmowskis betreffs der Granulosebildung in sporulierenden Bakterien war hiermit mit positiver Sicherheit nachkonstatiert.

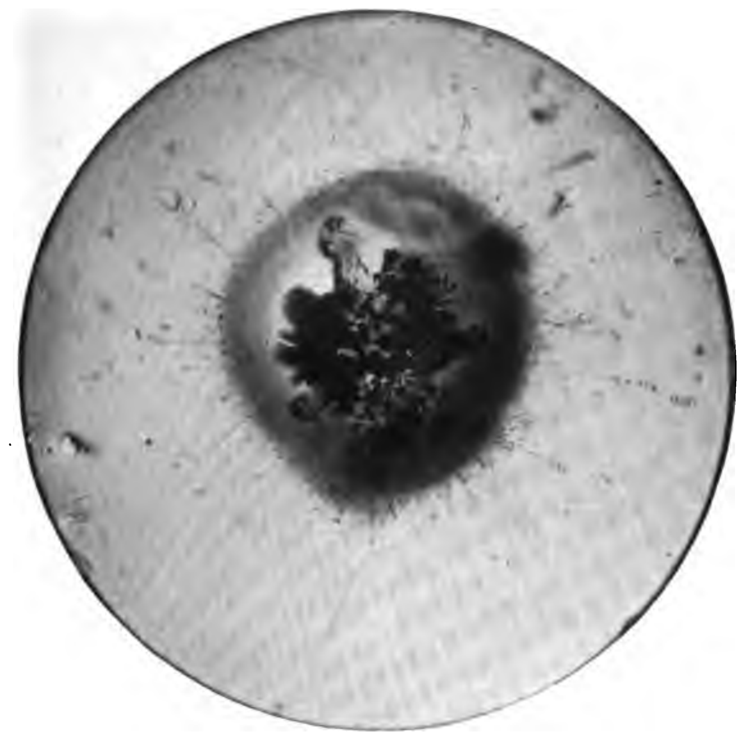


Fig. 1.



Fig. 2.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Fig. 3.



Fig. 4.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Fig. 5.



Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Die Hauptcharacteristica von Clostridium Polymyxa lassen sich nach der vorausgegangenen Beschreibung in folgende Punkte zusammenfassen:

1) Spezifischer Habitus der Agartupfkolonieen und der Gelatineplattenkolonieen mit ihren wurmartig geringelten Fortsätzen und Schwärmern; diese Fortsätze in der Gelatine kommen zwar auch der Gruppe der Kartoffelbacillen und dem Bacillus mycoides und einigen Abarten desselben zu, deren physiologische Eigenschaft in Milch aber grundverschieden ist im Vergleich mit der Milchkultur von Clostridium Polymyxa.

2) Peptonisierung der Gelatine, obwohl Säurebildner.

3) Beweglichkeit nur ganz junger Individuen und die peritriche Anordnung der Cilien.

4) Sporulation nur bei Luftzutritt, obwohl bei Luftabschluß besseres Wachstum.

5) Keimschlauchartige Involutionsformen in 14 Tage alten Bouillonkulturen.

6) Vergärung von Mannit, Milchzucker, Maltose, Galaktose, Xylose, Arabinose, Raffinose, α-Methylglykosid, Rohrzucker, nicht, aber Lävulose.

7) Granulosebildung in sporulierenden Bakterien.

A comparative study of sixty-six varieties of gas producing bacteria found in milk.

By **F. C. Harrison,**

Director, Bacteriological Department, Ontario Agricultural College and Experiment Station, Guelph, Canada.

With one table.

Gas-producing bacteria present in milk products have been the subject of numerous European investigations. Duclaux, Weigmann, de Freudenreich, Mac Fadyen. Adametz, Baumann, Boekhout and Ott de Vries, Barthel, and others, have described more or less fully a number of bacteria and yeasts which produce gas in milk and its products. In America, Bolley and Hall, Russell, Conn, Marshall, Moore and Ward, have also dealt with this subject, and as the following investigation was carried out under terms more nearly approaching American conditions, further details of their work are necessary.

Russell, in a general paper dealing with the gas-producing bacteria and their relation to cheese, stated that these organisms belonged to the lactic acid bacteria, that they were widely distributed and that their effects were worse in winter than in summer. Bolley and Hall made a careful study of six distinct forms of gas generating organisms; three of these were bacilli, two, micrococci, and one an oospora fungus. They were quite constantly present in the factory and were taken from various locations, as from separator slime, milk in the vats, separated milk, curd, from whey in the gas cavities of the green curds, and from pasteurized cream. Although a foot note at the bottom of this paper states that these organisms will receive special attention in a following

paper, I have been unable to find any description of the gas-producing organisms mentioned.

Moore and Ward in an inquiry concerning the source of gas and taint-producing bacteria in cheese curd found an organism in the curd resembling, if not identical with, B. coli communis, and found that this organism was introduced into the milk at the time of milking. Conn in his classification of dairy bacteria stated that "the most important bacillus of dairy bacteria species, next to B. acidi lactici, and almost universally found but never in large numbers, was the B. lactis aërogenes". The organisms included under Conn's provisional number 208, have shown very wide variations and it is quite possible that a number of distinct types are here included. "At all events, it is quite certain that if all these forms are to be regarded as one species, several quite distinct varieties must be recognized among them". Conn was of the opinion that the original B. acidi lactici of Hueppe, Bacterium acidi lactici of Marpmann; Bacillus lactis acidi Marpmann; Bacillus lactici acidi 1 and 2 of Grotenfelt; No. 8 of Eckles; Bacterium casei 1 and 2 of Leichmann and Bazarewski, and the bacillus used in the culture of Lorenz belonged to this same type. Marshall isolated from a gassy curd an organism belonging to the colon group which was the cause of considerable trouble in a cheese factory.

With the exception of the fairly full description of the organism described by Moore and Ward, which is probably identical with B. coli communis and the organism described by Marshall, no comparative work has been done upon the gas-producing organism present in milk and cheese. It is true that some investigators make a general statement that these organisms usually belong to the colon group, but no work has been done to fully substantiate this claim, and hence this topic has been the subject of an investigation involving the isolation, cultivation and description of sixty-six varieties of gas-producing bacilli.

Method of investigation. The gas-producing bacteria hereafter described were isolated from the milk supplied to the College Dairy by farmers in the vicinity, and the milk compares favorably with the ordinary factory supply, as constant endeavors have been made to instruct the patrons in the most approved manner of handling their milk. In spite of this fact, our cheesemaker is very often bothered with gassy fermentations in the curd and cheese, and this investigation was undertaken in order to find out the habitat, ascertain the number and study the effects of the various species of gas-producing bacteria present in milk and cheese.

Samples of milk were taken in sterile test tubes from the mixed milk of each farmer, and then brought to the laboratory, where suitable dilutions were made, and peptone-whey gelatine plates poured.

The summer was very hot and the milk was exceedingly rich in bacterial life, and after several trials we found that the best dilution was 0,25 ccm of milk in 30 to 50 ccm of sterile water. From this dilution 1, 2 and 3 drops from a graduated pipette were placed in whey gelatine and plates poured in the usual manner. The total number of colonies of different species were counted on the plates by means of a Jeffers counter and the number of bacteria computed per ccm, several subcultures of each species were then transferred to whey bouillon fermentation tubes, which were subsequently examined for gas production.

The sample of mixed milk was usually kept for a day or two at 37 ° C; in order to ascertain if gas was produced. Occasionally we found gas bubbles in the milk sample, but no gas-producing bacteria developing on the gelatine plates, a probable proof of the small number of this class of organisms in the sample at the time the examination was made.

The milk from some farms always showed gas, whilst from others, gas was only occasionally present and a few samples never showed a trace of gas. On the hottest days the number of gas producers was often very large, whilst on cooler days the number present was small.

The plate cultures were kept at 20° and examined at the end of from 2—5 days. The commonest and most numerous species present was the B. acidi lactici (Esten). The other bacteria present were varied as regards species and numbers. Yeasts and fungi were occasionally found but only in small numbers, these did not produce gas in whey bouillon.

Proteus and B. subtilis were nearly always present in small numbers. Chromogenic species were also common, various yellow and red species being commonest, but none produced gas in whey bouillon.

Only those species were kept which produced gas.

In all cases, at least six similar looking colonies were transferred to whey-bouillon fermentation tubes, as it was, at times, rather difficult to distinguish lactic acid bacteria from gas producing bacteria by means of colony differentiation.

From a number of samples of milk sent to the laboratory for examination, we isolated gas-producing bacteria, but these samples were obviously not so fresh as the samples we collected at the dairy. Nos. 13, 20, 32, to 38 were isolated from these samples. Nos. 16 and 19 were isolated from starters supposed to contain only the B. acidi lactici, but which had become contaminated with gas-producing bacteria.

Results of examination of the milk from the College Dairy Herd and from the mixed milk of farmers supplying the factory

College Dairy Herd, evening milk. 7 examinations. Gas always present in coagulum of sample. Bacterial content per ccm of fresh sample varied from 1 915 000 to 4 752 000. On two occasions gas-producing germs (1g and 1h) were isolated.

22. VII. Varieties 1g and 1h, 7000 colonies each per ccm.

22. VII. Variety 1g, 46 000 colonies per ccm, in 1 915 000. Percentage of gas producers 2,4.

Farmer H. 5 examinations. 4 times gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 807 000 to 30 000 000 per ccm. Three times gas producing bacteria (2 ey and 2 f) were isolated.

15. VII. Variety 2ey, 12 900 colonies. Total number 30 000 000. Percentage of gas producers 0,043.

22. VII. Variety 2ey, 123 000 colonies. Total number 7 000 000.

7. VIII. Varieties 2ey and 2f, 1000 colonies of each. Total number 807 000. Percentage of gas producers 0,2.

Farm Department, Ontario Agricultural College. 6 examinations, 4 times gas in coagulum. Bacterial content of milk as deli-

vered at the factory varied from 229000 to 2590000 per ccm. Twice gas producing bacteria (3g, 3h) isolated.

17. VII. Varieties 3g and 3h, 2560 colonies of each. Total number 1750000. Percentage of gas producers 0,1.

20. VII. Variety 3g, 16000 colonies. Total number 208000. Percentage of gas producers 7,5.

Farmer G. 5 examinations. 4 times gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 1830000 to 40000000 per ccm. One gas-producing bacterium (4) isolated.

27. VII. Variety 4, 96000 colonies. Total number 40600000 per ccm. Perentage of gas producers 0,2.

Farmer Gn. 3 examinations. Twice gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 539000 to 2000000 per ccm. One gas-producing bacterium (5) isolated.

10. VII. Variety 5, 154300 colonies. Total number 539000. Percentage of gas producers 28,6.

Farmers B, W, L, McN, W and A. 12 examinations. 10 times gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 108000 to 50450000 per ccm. No gas producing germs isolated.

Farmer H. 3 examinations. Twice gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 714000 to 49000000 per ccm. Twice gas producing bacteria (6a and 6b) isolated.

12. VII. Variety 6a, 39000. Total number 49000000.
„ 6b, 73000. „ „ 49000000. Percentage of gas producers 0,2.

6. VIII. Variety 6b. Total number 714000. Percentage of gas producers 0,5.

Farmer D. 2 examinations, once gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 360000 to 518000 per ccm. One gas-producing bacterium (7) isolated.

12. VII. Variety 7, 1200. Total number 360000 per ccm. Percentage of gas producers 0,3.

Farmer L. 2 examinations. Twice gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 184000 to 3240000 per ccm. Once gas-producing bacteria (8ax, 8ay, 8e) isolated.

31. VII. Varieties 8ax, 8ay, 37000 } of each. Total number
„ 8e, 3500 } 3240000 per ccm.
Percentage of gas producers 1,2.

College Dairy Herd, Morning milk. 7 examinations. 4 times gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 36000 to 7737000 per ccm. Three times gas-producing bacteria (9g, 9h, 9m) isolated.

16. VII. Variety 9g, 6240 colonies. Total number 7737000. Percentage of gas producers 0,08.

18. VII. Variety 9h, 2400 colonies. Total number 432000. Percentage of gas producers 0,5.

22. VII. Variety 9m, 333600 colonies. Total number 3000000. Percentage of gas producers 11,1.

Farmer M. 4 examinations. 4 times gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 17000000 to 101000000 per ccm. Three times gas-producing bacteria (10c, 10 isolated.

…ty-six varieties of gas producing bacteria found in milk.

…urs	Agglutination: serum from								Number of variety
	Rabbit immunised with Variety 13				Rabbit immunised with Variety 35				
	1:100	1:250	1:500	1:1000	1:100	1:250	1:500	1:1000	
	±	±	±	—	—	—	—	—	1g
	—	—	—	—	—	—	—	—	1h
	—	—	—	—	±	—	—	—	2ey
	—	—	—	—	±	±	—	—	2f
	—	—	—	—	—	—	—	—	3g
	—	—	—	—	±	—	—	—	3h
	—	—	—	—	—	—	—	—	4
…face	—	—	—	—	—	—	—	—	5
	—	—	—	—	—	—	—	—	6a
	+	±	—	—	—	—	—	—	6b
	±!	±	±	—	—	—	—	—	7
	±	±	—	—	—	—	—	—	8ax
	—	—	—	—	±!	±	±	±	8ay
	±!	—	—	—	—	—	—	—	8e
	—	—	—	—	—	—	—	—	9g
	+	±	±	±	±	±	—	—	9h
	+	±!	±	±	±!	±	±	—	9m
	—	—	—	—	±	±	±	—	10c
	—	—	—	—	+	—	—	—	11a

13. VII. Variety 10 d, 153 000 colonies. Total number 17 000 000. Percentage of gas producers 0,9,

17. VII. Variety 10d, 1600 of each. Total number 29 000 000.
Variety 10c. Percentage of gas producers 0,011.

22. VII. Variety 10c. 43 000 colonies. Total number 101 000 000. Percentage of gas producers 0,04.

Farmer McD. 4 examinations. 4 times gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 3 494 000 to 15 840 000. One gas-producing bacterium (11e) isolated.

17. VII. Variety 11e, 112 000 colonies. Total number 3 494 000. Percentage of gas producers 3,2.

College Dairy Herd, 3 milkings mixed together. 2 examinations. Twice gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 2 473 000 to 9 885 000 per ccm. One gas-producing bacterium (12) isolated.

22. VII. Variety 12, 3 397 000 colonies. Total number 9 885 000. Percentage of gas producers 34,3.

Milk samples from Pine River, Ontario.

20. VII. One gas-producing bacterium (13) present in large numbers.

Farmer H. 4 examinations. 3 times gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 432 000 to 77 000 000 per ccm. One gas-producing germ (14) isolated.

20. VII. Variety 14, 448 000. Total number 77 000 000. Percentage of gas producers 0,58.

Farmer P. 4 examinations. 3 times gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 270 000 to 4 170 000 per ccm. Three times gas-producing bacteria (15 a, 15 bx, 15 by, 15 c and 15 d) isolated.

31. VII. Variety 15ba, 432 000. Total number 4 170 000.
" 15bx, 360 000
" 15c, 2 200
" 15d, 240
Percentage of gas producers 19,0.

2. VII. Variety 15by, 9000. Total number 270 000. Percentage of gas producers 3,3.

9. VII. Variety 15a, 2880. Total number 446 000. Percentage of gas producers 0,6.

Gassy starter from O. A. C. Factory. Isolated a gas producer, variety 16a.

Farmer R. L. 3 examinations, twice gas in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory varied from 5 000 000 to 5 654 000 per ccm. Twice gas-producing bacteria (17 a, 17 bx, 17 by and 17d) isolated.

24. VII. Variety 17bx, 100 000. Total number 5 000 000. Percentage of gas producers 2,0.

31. VII. Variety 17a, 146 000. Total number 5 654 000.
" 17by, 110 000.
" 17d, 4 000.
Percentage of gas producers 4,5.

Farmer L. 1 examination. Gas production in coagulum. Bacterial content of milk as delivered at the factory 1 872 000 per ccm. Gas-producing bacterium (18) isolated.

12. VII. Variety 18, 36000 colonies. Total number 1872000. Percentage of gas producers 1,92.

The following table summarizes the majority of the results of the above investigations.

Source	Total No. of bacteria per ccm	Gas-producing bacteria		
		Variety	No. per ccm	Percentage
Dairy Herd	—	1g and 1h	7 000 of each	—
" "	1 915 000	1g	46 000	2,4
Farmer H.	30 000 000	2ey	12 900	0,043
" "	7 000 000	2ey	123 000	1,7
" "	807 000	2ey and 2f	1 000 of each	0,2
Farm Dept.	1 750 000	3g and 3h	2 560 " "	0,1
" "	208 000	3g	16 000	7,6
Farmer G.	40 600 000	4	96 000	0,2
" Gn.	539 000	5	154 300	28,6
" H.	49 000 000	6a and 6b	39 000 73 000	0,2
" "	714 000	6b	3 840	0,5
" D.	360 000	7	1 200	0,3
" L.	3 240 000	8ax and 8ay 8e	37 000 of each 3 500	1,2
Dairy Herd	7 737 000	9g	6 240	0,008
" "	432 000	9h	2 400	0,5
" "	3 000 000	9m	333 600	11,1
Farmer M.	17 000 000	10d	153 000	0,9
" "	29 000 000	10d and 10c	1 600 of each	0,011
" "	101 000 000	10c	43 000	0,04
" McD.	3 494 000	11e	112 000	3,2
" "	9 885 000	12	3 397 000	34,3
" H.	77 000 000	14	448 000	0,58
" P.	4 170 000	15a 15bx 15c 15d	432 000 360 000 2 200 240	19,0
" "	270 000	15by	9 000	3,3
" "	446 000	15a	2 880	0,6
" R. L.	5 000 000	17bx	100 000	2,0
" "	5 654 000	17a 17by 17d₁	146 000 110 000 4 000	4,5
" L.	1 872 000	18	36 000	1,92

Cassy starter from O.A.C. Factory. 14. VII. Variety 19 very numerous.

Samples of Milk from Innerkip, Ontario.

Sample 1.	10. VII.	Variety 20	isolated.
" 2.	10. VII.	" 21	"
" 3.	5. IX.	" 32	"
" 4.	5. IX.	" 33	"
" 5.	5. IX.	" 34	"
" 6.	5. IX.	" 35	"
" 7.	5. IX.	" 36	"
" 8.	5. IX.	" 37	"
" 9.	5. IX.	" 38	"

Having isolated the above mentioned gas-producing bacteria from milk, we endeavored to ascertain how the milk became infected with these bacteria, and the milk from the 25 cows comprising the College dairy herd was examined.

The udders and flanks of these cows were brushed and wiped with a damp cloth, the first milk was rejected, and the samples then taken in sterile test tubes. From the milk of two of these cows gas-producing bacteria (30a, 30b, 30c, 31b and 31d) were isolated.

The udders of these two cows were quite normal, and the sphincter muscles of the teat functioned perfectly. The milk of these two cows was tested one week later and still contained gas producing bacteria (30d and 31d). We may note in this connection that Moore and Ward have also isolated gas-producing bacteria from the udders of certain cows, but it is evidently an exceptional state of affairs.

The data regarding these two cows are as follows:

Cow No. 28 Dairy Herd.

23. VII.	Variety	30a.	Few present.
	„	30b.	By far the most numerous.
	„	30c.	Few present.
30. VII.	„	30d.	112 colonies in 18480 per ccm.

Cow No. 49 Dairy Herd.

23. VII.	Variety	31a.	Fairly numerous.
	„	31b.	In large numbers.
30. VII.	„	31d.	64 colonies. Total colonies 20700 per ccm.

Analyses of stable air. The dairy stables are high, well ventilated and clean, the walls etc., are whitewashed several times a year. All windows open towards pasture fields. The manure is stored in an adjacent closed shed.

Petri plates were exposed for 30 seconds to 1 minute in various places in the stable, by the windows, by the silo, under cows during milking and in the milk room. Dust from the window-sills was also examined:

The results of thirteen examinations were as follows:

Stable air	180 per plate.	No gas-producing bacteria.
„ „	180 „ „	„ „ „
By open windows	196 „ „	„ „ „
„ „ „	25 „ „	„ „ „
In the milk room	240 „ „	„ „ „
Under cows during milking (udders wiped with damp cloth, 1/2 min. exposure)	186 „ „	„ „ „
do.	340 „ „	„ „ „
do. (Cow 28)	160 „ „	„ „ „
do. (Cow 49)	60 „ „	„ „ „

Note. Gas-producing bacteria were isolated from the udders of cows 28 and 49.

Under cows during milking, 2400 per plate. 1660 colonies of gas-producing bacterium (No. 26). 1 min. exposure. (Cow 51.)

Dust from window sill, 280 colonies. No gas-producing bacteria.
„ „ „ „ 60 „ „ „ „

Water. The cows drank from a wooden trough some 16 feet long, supplied with water from artesian wells. This water was of remarkable purity, containing, as a rule, less than 20 bacteria per ccm. Samples of water taken from each end of the trough gave the following results:

8. VIII. Tap end, 1320 colonies per ccm, of these 1120 colonies of gas-producing bacterium (Variety 28).

8. VIII. Far end, 1710 colonies per ccm, of these 1690 colonies of Variety 29a, and 20 colonies of Variety 29d, gas-producing bacteria.

From can washings obtained by washing out clean, dry cans with sterile water, gas-producing bacteria 27b, 27c, 27d, were isolated. (27b was in considerable numbers.

Flies. Very many flies were present in the stable. The most numerous species was a large blood sucking fly (Stomoxys calcitrans) a small blood sucking fly (Horn fly, Haematobia serrata) rather numerous, and the common house fly (Musca domestica) in small numbers.

A number of these flies were captured, and single flies were placed in test tubes containing a measured quantity of sterilized water and well shaken. A certain quantity of this water was then placed into melted gelatine and plates poured.

Results:

23. VII. Stomoxys calcitrans, average of 2 flies, 48300 per fly, of these 320 colonies of variety 22a; 31840 colonies of variety 22b; and 240 colonies of variety 22d.

23. VII. Stomoxys calcitrans, average of 2 flies, 1610 per fly, of these 1600 colonies of variety 23, and 5 colonies of variety 23b.

23. VII. Stomoxys calcitrans, average of 2 flies, 10200 per fly, of these 5600 of variety 24a, and 600 of variety 24b.

Horn flies, average per fly, 3600. No gas-producing bacteria isolated.

House flies from stable, average per fly, 58000 colonies of these 20200 of variety 25 and 500 of variety 25d.

Cow manure. A large oese of fresh cow manure was placed in 10—15 ccm of sterilized water and well shaken, one or two drops of this mixture was placed in melted gelatine and plates poured.

3. X. 170 colonies per plate, of these 135 colonies of gas-producing bacillus, variety 39.

3. X. 128 colonies per plate, of these 68 colonies of gas-producing bacillus, variety 40.

3. X. 21 colonies per plate of these, 1 colony of gas-producing bacillus, variety 41.

Besides the above examination the manure from 17 dairy cows was examined in the same manner as stated above. The most numerous bacteria were gas-producing bacilli. Although these were not thoroughly identified, the appearance of the colonies lead us to believe they belonged to the aërogenes and colon groups, the former being most numerous. Cultures in sterilized milk made from these bacteria gave the peculiar odor, known to cheesemakers as "Gassy Milk" and also a number gave a characteristic "Cowy odor", although this particular smell has usually been ascribed to the absorption of stable odors.

The average ratio of gas-producing germs to other species in these 17 examinations was as 250:1.

Biology of the gas-producing bacilli isolated from the various sources mentioned[1]).

Morphology. All species were rod-like organisms.

---

1) All bacteria hereafter described underwent a preliminary cultivation in bouillon 3—5 passages.

There was considerable difference in length and breadth of the various species and also in pure cultures of a single species — 27b, and 27d were short, thick rods, coccoid in shape; length 1—2 μ; breadth 1,0—1,5 μ. 3g and 15bx were short and rather thin rods with rounded ends; length 1—2 $\mu \times$ 0,5—1,0 μ, 10c, 11e, 14, 16, 25a, 32, 37 were often coccoid in shape and sometimes rod-like. Length 2—4 $\mu \times$ 1—1,5 μ.

All other species grew more uniformly as short thick rods, the smallest individuals coccoid and the larger rods, length 1—3 $\mu \times$ 1—1,5 μ. Chains from 3—10 cells long were found in 1h, 2ey, 4, 8ax, 8ay, 8e, 14, 19, 25, 31a, 31b, 31d.

Stains. In young cultures all varieties stained well with the ordinary anilin stains. Polar staining was frequently observed, as was also granular staining. In old cultures, pleomorphic forms were common, large, or swollen individuals were observed which stained irregularly or badly.

Gentian violet and carbol fuchsin stained better and more regularly than methylene blue. Varieties 27b and 27d stained well by Gram's method, all others did not accept this stain.

Neither spores nor capsules were observed.

Motility. The motility of bacteria from 24 hour old agar cultures was observed. When the motion of bacilli was not observed from one point to another, the species was listed as non-motile, even if the molecular movement was very pronounced. Several examinations of doubtful species were always made in order to confirm our observations.

The kind of motility was varied, the commonest was snake-like; wriggling, end-over-end and oscillating movements were also seen.

Out of 66 varieties, 23 were motile.

Gelatine colonies at 20° C. Deep colonies of all varieties were very similar, they usually appeared as grey white and round; 3g, 14, 8ax, 8ay, 15a, 26, 30a, 30b, 30c, 30ax, were yellow brown in color; 7, 11e, 12 and 39 were white; the largest size was 1—1,5 mm in diameter.

Microscopically, they were clear and granular when young, and gradually became darker and opaque. 1h and 35 showed fine flask like outgrowths from the edges of the colony. The structure of No. 5 was moruloid. The colonies of 2e, 3h, 23 and 25 were oval with lobate-lobulate edges.

Surface colonies showed three distinct groups with connecting types between these.

Group 1. 1h, 14, 25, 35, to 38, appeared as thin, iridescent, slightly uneven growths, which spread rather quickly as flat, irregular expansions, with lobate-lobulate edges.

The whole colony gradually became thicker and grey white in color, and lost its shiny appearance. The surface was always uneven. The largest size was 6 mm. Microscopically, the colonies were granular and marmorated (like a grape leaf). The gelatine around colonies of 1h became cloudy.

Group 2. 2f, 3g, 4, 6 to 8ay, 9 to 13, 15 to 21, 22b, 22d, 24a, 24b, 26 to 34, 39 and 40, appeared as small, round, prominent points. They grew thicker and became shiny, smooth and pulvinate, with entire edges. The largest size was 8 mm in diameter, with an average size of 3—4 mm.

Microscopically, the young colonies were clear and slightly granular,

but soon all structure disappeared, beginning from the centre and progressing outwards.

The color of the colonies was dirty grey, except 10c which was slightly brown; in 17bx and 17by some colonies were almost milk-white, whilst the majority were dirty grey; some colonies of 31 were almost transparent and colorless, like drops of water, but later they usually turned to a dirty white color. 11e, 12, 17a, 17bx, 17by, 17d, 30a, 30d, 31, 33, 34 and 39 were capitate.

In 39 and 4 the gelatine surrounding the colony became cloudy. 15c, 15d, 17a and 20, were slightly shiny and ropy (3 mm threads). 6b showed clear, water-like drops within the edges of the colonies.

Group 3. 1g, 3h, 5, 22a appeared like those in group 2 as round, shiny points. These points grew thicker and became more prominent whilst the edge spread out, giving the colony an umbonate appearance. The surface of the centre bos even and shiny and the peripheral portion was uneven and dull with lobate-lobulate edges.

The color of all except 1g was dirty grey, in 1g it was yellowish brown. The largest size was 10—12 mm in diameter, average size 4—5 mm.

Microscopically. In the young colonies the structure was granular, the outer portion remaining so for some time, but the centre part soon became opaque. The outer portion was frequently marmorated.

2ey, 23 and 41 were types between the first and third groups. Some of the colonies of these varieties appeared as flat growths, similar to the coli type, others, and just as numerous, appeared as round prominent points which grew thicker and became umbonate like group 3. After 5 or 6 days the appearance of all colonies again became similar, the coli type became thicker and the umbonate colonies lost their appearance and levelled up at the periphery to the heighth of the bos. A few, however, preserved their umbonate character.

8e behaved like a representative of group 2, but after a few days the whole colony flattened and spread irregularly, later it looked like representative of group 1.

Gelatine stich. In all varieties a nodose growth took place along the line of puncture which subsequently became uniform, with a few colonies remaining near the line of puncture. Facultative anaërobic growth.

The surface growth of 11e, 12 and 30d was quite small; in all others the growth was, as a rule, the same as the surface colonies on gelatine plates. Thus, in varieties belonging to group 1, it was thin, uneven, quickly and irregularly spreading, and became thicker with age.

The growth was shiny when young, subsequently becoming dull. Variety 36 grew slowly and became prominent and remained shiny — it therefore simulated the surface growth of the representatives of our 2nd group.

2nd group. (2f, 3g, 8 to 13, 15, 16, 18 to 21, 24a, 24b, 26 to 28, 30a to 30d, 32 to 34, 36, 39 and 40), were round, prominent, even and shiny, color grey white, only slightly spreading.

9e and 10c had a very irregular surface growth.

9h, 10c, 15a, 15by, and 16 became slightly yellowish brown in the centre.

15bx, 15c, and 18 caused cloudiness in the gelatine. 15by deve-

loped a thick, prominent edge, with sunken centre (umbilical growth). 11e, 12, and 30d, developed a small raised bead at the point of inoculation.

The surface growth of 1g, 3h, 4, 5, 6b, 7, 17a to 17d, 22b, 22d, 29a, 29d, 31a, 31b, 31d and 41 behaved like surface colonies of group 3; i. e., the centre was prominent and even, and the edge thin, uneven, with lobate-lobulate edges. They were shiny when young becoming dull at a later period. Color, grey-white.

In 17bx and 17by the prominent centre was uneven.

In 3h the centre was yellowish-brown.

Gelatine streak. (Sloped gelatine tubes.) On sloped gelatine three different kinds of growth were distinguished, but these divisions did not comprise the varieties included in the three groups already mentioned.

1h, 5, 14, 22a, 25, 35, 37, 38, grew as thin, shiny, slightly uneven, iridescent, spreading expansions. The margin of the growth was lobate-lobulate.

After 5 days the growth become dull, dry, and grey-white in color.

1g, 2e, 3h, 4, 6b, 8ax to 9h, 10c, 12, 13, 15bx, 15by, 16, 17a, 17d, 18, 20, 21, 22b to 23, 24a, 27b to 33, 40 and 41, grew as grey white streaks which spread very slowly from the line of inoculation. The surface was even and shiny when young, turning dull in from 6—10 days, usually rather massive growth with even edges.

17d is shiny and 30d did not spread from the needle track. 24a and 40 always remained shiny.

2f, 3g, 11e, 15a, 15d, 24b, 26, 34, 36, 39, grew as grey white streaks which spread very slowly from the line of inoculation. The edge became raised, giving the centre a sunken appearance, comparable to the umbilicate growth of colonies. They remained shiny for a long time.

The following varieties cannot be inserted in the above groups: In 6a and 7 the surface growth was uneven and the centre became slightly brown; in 9m the centre remained grey white, but with uneven surface.

In 15c the surface was plicate. In 17bx, 17by and 19, the centre became prominent and slightly plicate, dry and dull, the margin is thin, shiny and even.

The gelatine became cloudy afther 2 months in 1g, 2ey, 3h, 4, 5, 6a, 6b, 7, 8ax, 8ay, 8e, 12 to 15, 17 to 27, 29 to 33, 37, 38, 40 and 41.

Agar slope at 37° C. Three groups could be distinguished.

Group 1. 1h, 15bx, 18, 22a, 23, 35 and 36 grew as thin, slightly uneven, spreading expansions with lobate-lobulate edges: shiny when young, gradually becoming dull, iridescent by transmitted light, grey white by reflected light, condensation water turbid.

Group 2. 4, 5, 7, 8e, 9g, 9h, 10c, 11e, 14, 15a, 15c, 15d, 17a to 17d, 19, 20, 22b, 22d, 24a, 24b, 25a, 28, 30b, 32, 34, 40 and 41, grew as thick, massive, grey white, shiny, smooth expansions with even edges. Transparent and slightly opalescent when young, becoming opaque with age, condensation water turbid. In 15a and 17d the condensation water became thick. 2ey, 3h, 15d and 20, were slightly shiny. 2ey, 39, 3h, 6a and 6b, 29a, 29d, 30d, 37 to 39 appeared as a thin growth with uneven surface, spreading, edges lobate-lobulate, later they became massive even at the edge and on the surface.

Group 3. 1g, 2f, 8ay, 9m, 13, 15by, 16, 26, 27b, 27d, 30c and 31a grew as very massive, moist and shiny, dirty grey, slightly spreading expansions, with even edges, condensation water very turbid and after 1 or 2 months became thick.

8ax, 12, 21, 30a, 31b, 31d, and 33 are similar to this group (3) but the growth became dull, the condensation water never became thick.

Potato (Roux method). All varieties grew well on potato but shewed very slight differences. The growth spread quickly over the potato cylinder. Varieties 1h, 5, 9m, 16, 17by, 19, 22a, 22b, 35 to 38, the growth was thin but abundant, uneven surface, shiny but soon turning dull. In all other varieties the growth was more massive, moist and shiny.

The surface was even in 2f, 40 and 41, and slightly plicate in all others of this group.

Color of growth varied from dirty gray to yellowish brown. See Table I.

Bouillon. The greater part of the muscle sugar was fermented during the preparation of the bouillon, slight traces, however, remained as cultures of B. coli gave a bubble or two of gas. The reaction of such tubes was carefully tested, but there was never enough of this sugar present to produce acidity in the bouillon.

All varieties grew well in bouillon, the turbidity was uniform and increased with age, except in 7, 15d, 16 and 23b, which produced a flocculent turbidity.

All except 4, 12, 24b, 30a, 30d, 31d, 33, 34, and 36 formed a pellicle in from 3—5 days. The pellicle appeared as a thin blue colored ring, which subsequently grew over the entire surface; it was iridescent, thin, dry, and on shaking it broke in pieces and sunk to the bottom of the tube. The ring either disappeared or became thicker or whiter.

Occasionally a ring formed without a pellicle developing. (See Table I.)

In 22a the pellicle became thick and grey white in color and sunk in a mass on shaking.

Sediment formed in from 18 to 24 hours, it was usually fine, but flocculent in 7, 15d, 16 and 23b.

The odor of all cultures was flat, insipid, disappearing in 6 to 8 weeks. The reaction of all bouillon cultures became alkaline. Sulphuretted hydrogen was formed in all cultures.

Milk. All varieties grew well in milk, producing an acid reaction. The time taken to coagulate the curd, the character of the curd, and the production of gas were more variable.

After 12 hours at 37° nearly all cultures showed gas bubbles, which were few in number and situated in a ring, or else the whole surface was covered with foam from 1 to 4 mm deep. No gas bubbles had collected on the surface of 5, 6b, 8e, 14, 15a, 15bx, 16, 17d to 19, 22a, 24a, 25a, 26 to 27d, 29a, 30d, 32 to 34 and 36 to 38, but if the tubes containing these cultures were gently tapped or a hot platinum needle thrust in, gas bubbles were liberated, often in considerable quantity. 23 and 35 had coagulated without separation of whey and later a few large gas bubbles were observed in the coagulum.

After 14 hours at 37° gas production and acidity had increased in all tubes, 9g was coagulated without separation of whey, a few large gas bubbles were enclosed in the coagulum.

36 hours at 37°. Gas production had either become stationary or diminished. 2 ey was firmly coagulated and shrunken with clear whey on the surface, no gas was present. 1 h resembled 2 ey but large gas bubbles were present in the coagulum. In 7, 15a, 15d, 17a, 17d and 20 the coagulum, was soft, and no gas was present.

48 hours at 37°. Surface gas bubbles had almost disappeared and 6a, 13, 15c, 17bx, 22a and 30, were coagulated into a soft curd. No serum or gas was present.

15by, 30b, 33, and 40 were firmly coagulated with contraction of curd and free whey. A few large gas bubbles were held in the coagulum. 9h, 18, 21, 22b, 24b, 25a, 27b, 28, 29a, and 36 were slightly thickened and flaky masses of curd were seen.

60 hours at 37°. 2f, 3h, 8ax, 8ay, 9h, 9m, 12c, 21, 22b, 22d, 24b, 27d, 28, 30a, 31d, 31, 33 and 36 became coagulated. The coagulum wes fairly solid and no free serum or gas bubbles were present.

5 days at 37°. All had coagulated except 5, 8e, 11e, 25, 37, 44, which never coagulated.

A number of varieties were grown in small flasks of sterilized milk in order to determine the odor and taste. The results of these tests were as follows:

3h, 13, 15, 20, 24a, 30d, and 40 were acid and slightly bitter, the odor was that associated by cheesemakers with "gassy milk".

8 ax, 29 a, were sour, bitter, and slightly astringent. The odor was "gassy".

2 ey, 5, 41, and another gas producing organism isolated from cow manure were sour, bitter and very astringent. The odor was "gassy".

9 my and two others isolated from manure were sour, bitter and astringent. The odor was "cowy", a smell usually associated with the absorption of animal odors, but in this case due to bacteria.

Indol production. The bacteria were grown in Dunham's solution. Whilst growing well in this solution, the different bacteria never produced as much turbidity as in bouillon. From 18 hours on sediment was present which increased in amount.

The indol test was applied after 10 days growth at 37°. A few drops of sulphuric acid and 1 ccm of a 0,002 per cent. solution of sodium nitrate was added to each tube.

1g, 1h, 2f, 3h, 4, 6b, 8ax, 8ay, 9g, 9h, 11e, 12, 15a, 19, 22a, 22d, 23, 24b, 26, 30b, 31b, gave very positive tests, the color was dark red to purple.

2ey, 3g, 5, 6a, 8e, 9m, 15bx, 15by, 15c, 17d, 24a, 25a, 28, 29a, 30c to 31a, 30d to 35, 38, and 40 gave a slight reaction, the color was faintly pink.

7, 10c, 13, 14, 15d to 17by, 18, 20, 21, 22b, 27b, 27d, 29d, 30 a, 36, 37, 39 and 41 gave no reaction.

Nitrate broth. All varieties reduced nitrates.

Neutral red. 10 ccm of beef peptone agar with 0,5 per cent. of glucose was filled into testtubes and sterilized and 0,1 ccm of a 0,5 per cent. of a sterile water solution of neutral red was added to the melted agar tubes at 40° and then inoculated with 0,5 ccm of the 18 hour old bouillon cultures (Savage). The whole culture was well shaken, cooled, and kept at 37° C. They were examined at different periods up to 80 hours, and the results are given in Table I.

All varieties except 22a produced small or large quantities of gas.

Sixty-five of the sixty-six cultures looked almost alike at the end of 80 hours.

The progress of reduction differed with the various varieties, although inoculated with like amounts. Thus, after 18 hours 4, 9g, 23, 24b, 26, 27b, 28, 30a, 33, and 35 had reduced the neutral red to a canary yellow color except a red ring at the surface.

1h, 2e, 3g, 5, 6a, 6b, 8ay, 10c, 11e, 13, 14, 15by, 15c, 16, 17bx, 17by, 18, 19, 20, 21, 22a, 25, 30d, 32, 34, 36, 37, 38, and 41 did not show any change. All others showed a spotted or homogenous fluorescence.

The various differences at 30 and 46 hours may be noted in Table I.

At the end of 80 hours, the reduction of the 66 varieties was of 4 types.

Type 1. All canary yellow — 3h, 4, 8ay, 9e, 12, 17a, 17d, 19, 22b, 22d, 24b, 26, 27b, 28, 30a, 31a, 31b, 40.

Type 2. Canary yellow except a red ring on surface, 1g, 1h, 2f, 3g, 6a to 8ax, 8e, 9h, 9m, 10c, 11e, 13, 14, 15a to 15d, 17bx, 20, 21, 23, 24a, 25, 27d, 29a, 29d, 30b, 30c, 30d, 31d to 39, 41.

Type 3. Fluorescent except a red ring on surface. 2ey, 5, 16, 17 by, 18.

Type 4. Slight fluorescence on the surface, 22a.

Rothberger first introduced neutral red as a means of differentiation between colon and typhoid bacteria, but it does not appear of any value as a means of separating members of the colon group. (See Savage.)

Among our varieties 22a did not reduce neutral red, which might be attributed to its not fermenting glucose. The slight fluorescence on the surface might be due to the effect of air.

It might be also noted that typical B. lactis aërogenes, and intermediate forms between this species and B. coli were also able to reduce neutral red as vigorously as coli; therefore, the neutral red test is not specific for typical B. coli, but must be ranked with such broad tests as Gram's stain, etc.

Fermentation tests were made in Dunham's solution with 2 % peptone and 4 % of the various sugars. All varieties grew in the closed arm of the tube with sediment formation.

Acid production accompanied the formation of gas and fermentation ceased in from 48 to 60 hours.

Lactose. With some varieties, gas-production appeared in 6 hours, in others from 12—18 hours, the greatest amount of gas was generated in 24 hours, from then on the production was small. In 1g, 1h, 2ey, 2f, 3h, 4, 7, 8ax, 8ay, 9g, 9m, 10c, 12, 15a, 15bx, 15d, 17a, 18, 20, 21 to 22a, 27b, 32 and 41, the ratio of the whole amount of gas to that absorbed by sodium hydrate was about 2:1. In the remaining varieties the ratio was different, being about 1:1.

The quantity of gas-produced varied, generally those varieties isolated from milk produced more than those taken from other sources. Ten varieties, 1h, 2f, 3h, 4, 7, 8ax, 9g, 9m, 15d and 17a produced more than 50 % of gas. One variety isolated from cow manure produced 40 %.

27b and 27d isolated from can-washings produced 37 % and 30 % respectively.

In order to see if varieties, isolated from other sources than milk

increased their power of fermenting lactose by growing in milk, 22b, 22d, 23, 24a, 29a, 29d, 30d, 40, 41 and another variety from manure were grown for 5 generations in sterilized milk and then inoculated into fermentation tubes containing 4 % lactose, with the following results:

Source	No. of variety	Before passage through milk	Absorbed	After 5 passages through milk	Absorbed
From flies	22b	26 %	7 %	62 %	32 %
" "	22d	22 "	8 "	45 "	20 "
" "	23	0,6 "	1 "	10 "	2 "
" "	24a	11 "	1 "	11 "	1 "
Water	29a	5 "	1 "	10 "	2 "
"	29d	5 "	0,5 "	5 "	0,5 "
Udder	30d	15 "	3 "	25 "	8 "
Cow dung	40	14 "	4 "	58 "	21 "
" "	41	40 "	20 "	55 "	26 "
	variety	5 "	0 "	30 "	10 "

This table showed that the lactose fermentation power of all varieties except 24a and 29d was very considerably increased by growth in milk, the ratio of gas absorbed remained about the same.

Glucose. Dunham's medium with 4 % glucose. Little or no gas production was present up to 24 hours. Between 24 hours and 36 hours most gas was formed, the production gradually decreased to 48 hours, and thereafter very little, or no gas was formed. The ratio between the total amount of gas formed and the amount absorbed by sodium hydrate was the same as with lactose, i. e. 2 : 1. Varieties producing gas in this proportion were, 1g, 1h, 2f, 4, 7, 8ax, 8ay, 9g, 9m, 12, 15bx, 15by, 15c, 15d, 17a, 22by, 22d, 24a, 24b, 26, 27b, 29a, 29b, 30a, 30b, 30c, 30d, 31a, 31b, 31d, 32, 33 and 40.

31 varieties produced more than 50 % of gas; 22a which produced 37 % gas in lactose did not ferment glucose.

Saccharose. 4 %. No gas was produced by 2ey, 5y, 6a, 8e, 10c, 13, 14y, 16, 17bx, 17by, 19, 22a, 25a, 29a, 29d, 37, 38, 39 and 41. The other varieties produced various quantities of gas, 12 varieties produced more than 50 %.

In dairy practice a starter or culture of a lactic acid bacillus is used to overcome the gassy fermentation of milk, and in order to quantitively establish the workings of this process a number of experiments were instituted, in which gas-producing and lactic acid organisms were mixed together and their antibiosis studied.

15a was the organism selected for these experiments, as it fermented glucose, lactose and saccharose (45, 54, and 54 %). The lactic acid organism was the B. acidi lactici (Esten).

These organisms were grown in whey bouillon for 18 hours, and various quantities of each organism were placed in fermentation tubes containing whey peptone bouillon. The pipettes used delivered the same sized drop (22 drops per ccm).

Bacillus acidi lactici No. of drops inoculated	15a gas-producing species No. of drops inoculated	Amount of gas produced at end of 24 hours	Amount of gas produced at end of 48 hours
0	10	95 %	96 %
1	9	60 „	60 „
2	8	33 „	40 „
3	7	64 „	64 „
4	6	23 „	26 „
5	5	36 „	38 „
6	4	38 „	40 „
7	3	0,3 „	13 „
8	2	32 „	32 „
9	1	21 „	23 „
10	0	0 „	0 „

The 18 hour old bouillon cultures were diluted with 10 ccm sterile water and this mixture was used in the same manner.

Bacillus acidi lactici No. of drops inoculated	15a gas-producing species No. of drops inoculated	Gas at end of 24 hours
0	10	56 %
1	9	60 „
2	8	40 „
3	7	50 „
4	6	53 „
5	5	35 „
6	4	59 „
7	3	23 „
8	2	28 „
9	1	26 „
10	0	0 „

In general the amount of gas produced decreased with the increase of lactic acid bacteria, but reference to the above tables shows variations to this general deduction. (Conclusion follows.)

Ueber Plasmolyse und Turgorregulation der Presshefe.

Von **N. H. Swellengrebel**, Amsterdam.

Mit 9 Fig.

Eine von Alfr. Fischer (7) in seinem Buche gegebene Anregung, Untersuchungen über die Permeabilität der Saccharomyceten anzustellen, veranlaßte mich zu einigen Versuchen über diesen Gegenstand[1]).

I. Die Plasmolyse und Permeabilität der Preßhefe.

Bevor ich näher auf meine eigenen Versuche eingehe, sei es mir erlaubt, zunächst in Kürze die Ergebnisse der Versuche von A. Fischer und anderen zu rekapitulieren, welche die Plasmolyse und Permeabilität

1) Ich bin Herrn Prof. Alfred Fischer für die guten Ratschläge, die er mir gegeben hat, sehr verpflichtet; es ist mir eine angenehme Pflicht, ihm für seine Liebenswürdigkeit hier meinen besten Dank abzustatten.

bei den Bakterien, die den Saccharomyceten sehr nahe stehen, studiert haben.

A. Fischer (7) fand, daß, wenn man den Vibrio der asiatischen Cholera auf einem Substrat züchtet, das 1 Proz. Rohrzucker, 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Liebigs Fleischextrakt enthält, eine Kochsalzlösung von 0,08—0,1 Mol. gerade ausreicht, um eine eben sichtbare Plasmolyse hervorzurufen. Versucht man aber, einen Milzbrandbacillus zu plasmolysieren, so gelingt das nicht, und zwar selbst dann nicht, wenn man sehr starke Lösungen anwendet. Nach dieser Methode konnte Fischer zwei Bakteriengruppen unterscheiden, und zwar Bakterien, deren Protoplasma impermeabel für die meisten Stoffe ist, die man also mit verschiedenen Lösungen plasmolysieren kann, und Bakterien, deren Protoplasma den uns bekannten Stoffen gegenüber gänzlich permeabel ist, das man also mit keiner, noch so starken Lösung zur Kontraktion bringen kann.

Migula (19) konnte bei dem großen Bacillus oxalaticus feststellen, daß der Protoplast sich im ganzen von der Wand zurückzog, und daß die große zentrale Vakuole zu einer sehr unansehnlichen verkleinert wurde oder oftmals ganz verschwand.

Hinze (11, 12) zeigte, daß Beggiatoa mirabilis und Thiophysa volutans nicht auf gewöhnliche Weise sich plasmolysieren. Wenn man sie in eine hypertonische Lösung bringt, kontrahieren sie sich im ganzen, ohne daß der Protoplast sich von der Membran loslöst.

Man hat ebenfalls versucht, den osmotischen Druck der Saccharomyceten zu bestimmen. d'Arsonval (1) behauptet, daß dieser Druck sehr groß sei, vielleicht Tausende von Atmosphären. Er hat auch eine Methode angegeben, um diesen Druck zu messen. Hierzu soll man die Temperatur bestimmen, bei welcher der Zellsaft eben zu gefrieren anfängt, d. h. die Temperatur, bei welcher die Hefezellen zu sterben anfangen. [Prior (47) hat einige Angaben über den Einfluß osmotischen Drucks auf Hefen gemacht, hat aber nicht versucht den Turgor zu bestimmen.]

1. Morphologie der Plasmolyse.

Bekanntlich kann man die Hefezellen mittels hypertonischer Lösungen plasmolysieren, wobei sich das Protoplasma von der Zellwand zurückzieht. Die Hefezellen gehören also in das System aller bisher untersuchten Pflanzenzellen (ausgenommen vielleicht Beggiatoa und Thiophysa); der Protoplast ist nicht mit der Membran verwachsen, er ist ihr vielmehr nur lose angeschmiegt.

Es hat einige Schwierigkeiten, die Plasmolyse der Saccharomyceten festzustellen, wenn man mit nicht sehr konzentrierten Lösungen arbeitet, da die Membran stark gedehnt ist und sich entspannt, wenn das Protoplasma sich kontrahiert; es tritt also erst bei höheren Konzentrationen Loslösung des Protoplasten von der Zellwand ein.

Die Hefe wurde auf einem Substrat gezüchtet, das von Fischer für Bakterien angegeben und oben schon erörtert ist. Es hat einen osmotischen Wert von ± 0,04 Mol. NaCl und eignet sich vorzüglich zur Züchtung von Preßhefe. Der Kürze halber wird dieser Nährboden im folgenden als Fischer-Substrat bezeichnet. Als nun versucht wurde, die Hefezellen mittels einer Lösung von 1 Mol. NaCl zu plasmolysieren, mißlang dieses scheinbar, so daß man glauben konnte, daß die Sache hier ebenso wie bei Beggiatoa und Thiophysa liege. Versuchte man

aber, die Hefezellen mit unverdünntem Glycerin zu plasmolysieren, so trat prompte und starke Plasmolyse ein; es war die erste Annahme folglich ganz unberechtigt.

Die Plasmolyse gestaltet sich nicht immer gleich. Bald zieht der Protoplast sich im ganzen von der Zellwand zurück, bald bleibt er hier und dort an der Membran angeheftet und man erhält so eine zentrale Plasmakugel, die mittels Plasmabrücke mit der Zellwand verbunden ist. Während der Kontraktion des Protoplasten verliert die Vakuole zuerst ihre regelmäßig runde Gestalt und wird auf der einen oder anderen Seite abgeplattet; die Abplattung wird bald zu einer Einschnürung, worauf eine Teilung der Vakuole stattfindet. Diese Teilung schreitet fort und bald werden die Teilungsprodukte so unansehnlich, daß man sie nicht mehr nachweisen kann.

Die Zellwand, die bei plasmolysierten Zellen von relativ großer Dicke zu sein scheint, ist doch nicht sehr fest und fällt leicht zusammen. Dies kann man sehr schön an plasmolysierten Zellen beobachten; die Membran zeigt überall Falten und Einsenkungen, wo sie nicht mehr von dem Protoplasten unterstützt wird.

Wenn man zur Plasmolyse weniger konzentrierte Glycerinlösungen verwendet, wird diese immer schwächer und bald schließt sich das Protoplasma wieder der Zellwand an, obgleich man aus der Form der Vakuolen und der Größe der Zellen schließen kann, daß die Plasmolyse noch nicht zurückgegangen ist. Es würde unmöglich sein, mit diesen unsicheren Indikationen die plasmolytischen Grenzkonzentrationen festzustellen, wenn man dazu nicht ein anderes sicheres Mittel hätte: Wenn man die Hefezellen mit Lösungen behandelt, die weniger konzentriert sind als 1,66 Mol. Glycerin und man also an den einzelnen Zellen keine Plasmolyse mehr nachweisen kann, gelingt dies wohl bei aneinandersitzenden Mutter- und Tochterzellen, die eine gemeinschaftliche Scheidewand besitzen; auch solche Zellpaare, die noch keine Scheidewand aufweisen, können zum Nachweis der Plasmolyse Verwendung finden. Bei diesen Zellen tritt die Plasmolyse daraus zu Tage, daß die zwei Protoplasten, auch wenn sie sich schon dem übrigen Teil der Zellwand angeschmiegt haben, die gemeinschaftliche Membran nicht berühren, und also ein heller Streifen zwischen den beiden Protoplasten sichtbar bleibt. Bei der Verwendung von Lösungen abnehmender Konzentration wird dieser Streifen immer dünner, um zuletzt gänzlich zu verschwinden. Ich habe als plasmolytische Grenzkonzentration die Konzentration jener Lösung betrachtet, die einen noch eben sichtbaren Streifen zwischen den Protoplasten hervorzurufen im stande war. In dieser Lösung hat die Hefezelle ihre normale Größe wieder bekommen, auch die Vakuole hat ihre vorherige Gestalt wieder angenommen.

Nachdem es also gelungen war, auch die geringsten Spuren der Plasmolyse nachzuweisen, konnte festgestellt werden, daß eine Lösung von 0,275 Mol. NaCl noch eben ausreichend war, um eine Plasmolyse hervorzurufen.

[Die Hefezellen sind, ebenso wie dieses nach den Untersuchungen Massarts (43), Fischers (7) und Fickers (44) für Bakterien gilt, empfindlich gegen plötzliche Aenderungen des osmotischen Drucks des Mediums.]

Bringt man die Hefezellen in eine stark hypertonische Lösung (die aber nicht tödlich auf die Zellen einwirken soll) und ersetzt man, nachdem sie 24 Stunden dort belassen worden, die Lösung mit destilliertem

Wasser, so platzen viele Zellen und lassen ihren Inhalt heraustreten. Man kann dieses Platzen noch schöner studieren, wenn man die Hefe auf einem konzentrierten Substrat züchtet und Zellen dieser Kultur in destilliertes Wasser überträgt. Außer dem Platzen beobachtet man etwas, was man auf den ersten Blick für Plasmoptyse im Sinne Fischers halten würde: Die Zellen zeigen unregelmäßige, langausgezogene oder auch angeschwollene Anhänge, welche immer von einer Membran umgeben sind. Diese Zellwand ist außerordentlich zart, sie zerreißt beim mindesten Druck. Offenbar hat diese Erscheinung nichts mit der Plasmoptyse Fischers gemein, die unter ganz anderen Umständen entsteht; es muß denn auch diese Erscheinung anders gedeutet werden. Vielleicht entsteht sie dadurch, daß bei der plötzlichen Ausdehnung des Protoplasten die am wenigsten widerstandsfähigen Teile der Zellwand am meisten ausgedehnt werden, eine Erscheinung, die man auch oftmals beobachten kann, wenn man Wasser durch einen alten Kautschukschlauch fließen läßt und plötzlich den unteren Teil des Schlauches verschließt.

Wenn man die Hefezellen mit einer Lösung plasmolysiert, die nicht so konzentriert ist, daß die Vakuole ganz verschwindet, die aber das Protoplasma langsam abtötet (z. B. eine Lösung von 1 Mol. NH_4Cl), so kann man leicht beobachten, daß die Wand der Vakuole sich in derselben Weise verhält, wie die von de Vries studierten Pflanzenzellen (34).

H. de Vries konnte feststellen, daß die Wand der Vakuole ein besonderes Organ des Protoplasmas darstellt, ebensogut wie die Hautschicht und das Körnchenplasma. Dieses Organ, das er Tonoplast benannte, ist es, das den Turgordruck beherrscht. de Vries konnte auch nachweisen, daß dieses Organ viel widerstandsfähiger gegen äußere Einflüsse ist als die übrigen Plasmateile. Hierauf beruht auch seine Methode zur Isolation der Tonoplasten. Wenn er das Protoplasma mit einer 10-proz. Lösung von Kaliumnitrat, die mit Eosin etwas rötlich tingiert worden war, plasmolysierte und langsam abtötete, färbte es sich lebhaft rot; der Tonoplast war aber am Leben geblieben und also für die Farbstoffe undurchlässig, folglich blieb die Vakuole ungefärbt.

Einzelne der de Vriesschen Versuche wurden mit der Preßhefe wiederholt, und es wurden dieselben Ergebnisse erhalten. Die Hefezellen wurden mit einer Lösung von 1 Mol. NH_4Cl plasmolysiert. Bei dieser Konzentration wird die Vakuole freilich etwas verkleinert, sie bleibt aber sonst unverunstaltet und gut sichtbar. War die Ammoniumchloridlösung vorher mit etwas Eosin versetzt, so konnte man leicht das Sterben der plasmolysierten Zellen verfolgen durch die fortwährend stärker werdende Tinktion. Nachdem aber das Protoplasma schon eine dunkelrote Farbe angenommen hatte, war die Vakuole noch gar nicht tingiert, die Vakuolenwand war also noch lebendig. Die Zellsaftblase hob sich als eine helle Kugel von dem dunkeln Hintergrunde des Protoplasmas ab. Durch die erhebliche postmortale Plasmakontraktion kann es wohl geschehen, daß die noch lebende Vakuole sozusagen aus dem Protoplasma hinausgepreßt wird. Dieses Ereignis hat de Vries bei Spirogyra öfters beobachten können, hierdurch war es ihm auch möglich, mit den isolierten Vakuolen zu arbeiten. Nur ein einziges Mal habe ich dasselbe bei der Preßhefe beobachtet; die hinausgepreßte Vakuole war dem Protoplasma wie eine helle Kugel aufgesessen. Es war mir natürlich unmöglich, mit dieser einen Vakuole weitere Versuche

vorzunehmen. Durch die Tatsache, daß die Vakuole sich teilt, wie man es bei der Plasmolyse beobachtet, und daß die Wand der Vakuole eine größere Resistenz gegen äußere schädliche Einflüsse aufweist als die anderen Organe des Protoplasmas, glaube ich anzunehmen berechtigt zu sein, daß der Tonoplast im Sinne de Vries' identisch ist mit der Vakuolenwand der Preßhefezellen, und daß also auch in dieser Hinsicht diese Zellen mit jenen der höheren Pflanzen übereinstimmen.

Endlich bleibt noch eine Beobachtung zu erwähnen übrig, die man jedesmal beobachten kann, wenn man die Zellen einer jungen, gesunden Kultur, die auf konzentriertem Substrat gewachsen ist, in destilliertes Wasser überträgt. Es platzt dann ein Teil der Zellen, die Mehrzahl aber bleibt am Leben. Ein größerer Teil der unbeschädigten Zellen wird durch den ausgetretenen Inhalt der geplatzten Zellen aneinander gekittet; die Hefe wird sozusagen agglutiniert. Sehr schön kann man diese Agglutination demonstrieren, wenn man destilliertes Wasser einen Augenblick einwirken läßt und dann die Hefe mittels essigsauren Gentianavioletts fixiert und färbt. Die gesunden Zellen scheinen dann dunkel tingiert, die Kittsubstanz etwas heller mit dunkeln Punkten. Das ganze Bild gleicht dann wohl etwas der Abbildung Löwits (10). Man hat schon einmal Agglutination bei Hefen beobachtet. Barendrecht (2) schwemmte 5 g Preßhefe in 10 ccm Wasser auf und war im stande, diese Hefeaufschwemmung mittels bestimmter Konzentrationen von Schwefelsäure und anderer Säuren zu agglutinieren. Er konnte auch für jede Säure eine Konzentration maximaler Agglutination feststellen. Diese Konzentration war desto höher, je schwächer die Säure war. Die Agglutination trat nur bei lebenden Zellen ein. Ich kann zur Zeit nicht entscheiden, ob diese Agglutination mit der von mir beobachteten identisch ist oder nicht. Allerdings wird die Barendrechtsche Agglutination unter ganz anderen Bedingungen hervorgerufen. Wie dieses auch sein möge, immerhin ist es doch möglich, die bei den Bakterien auftretende Agglutination analog der oben beschriebenen derart zu erklären, daß die Zellwand auf die eine oder andere Weise geschädigt wird, die Bakterien demzufolge ihre Geißeln abwerfen, ein Teil der schwächeren platzt und mit seinem Inhalt die übrigen Bakterien aneinanderkittet.

2. Bestimmung der plasmolytischen Grenzkonzentration.

Zur Bestimmung der plasmolytischen Grenzkonzentration wurde die Hefe auf dem Fischerschen Nährsubstrat (siehe oben) gezüchtet. Die Versuche wurden mit Preßhefe der Nederlandsche Gist en Spiritusfabriek zu Delft und mit Heferasse Steinberg der Geisenheimer Versuchsstation angestellt. Am meisten wurde aber mit Preßhefe gearbeitet, da ich es vorzog, Mittelwerte zu erhalten und man diese eher bekommt durch die Benutzung eines Gemisches von Rassen als durch das Experimentieren mit einer Rasse. Als später auch die Rasse Steinberg zur Kontrolle herangezogen wurde, hat es sich herausgestellt, daß die plasmolytische Grenzkontration dem Kochsalz gegenüber für diese Hefeformen annähernd dieselbe ist, nur in ihrer Permeabilität weichen sie vielleicht etwas von einander ab. Dessenungeachtet kann man beobachten, wenn man mit Kochsalzlösung arbeitet, die der Grenzlösung nahe kommt, daß man bei 0,33 Mol. schon für einen Teil der Zellen die plasmolytische Grenzkonzentration erreicht hat, und daß sich bei einer Konzentration

von 0,275 Mol. noch eine Anzahl Zellen findet, die noch nicht deplasmolysiert sind. Hieraus ist ersichtlich, daß die plasmolytische Grenzkonzentration verschiedener Heferassen wohl um 0,06 Mol. schwanken kann. Jene Lösung, die nur noch einen kleinen Teil der Zellen plasmolysierte, wurde als plasmolytische Grenzkonzentration aufgefaßt.

Zur Bestimmung des Turgors wurden nur Kulturen verwendet, die nicht älter als 24 Stunden waren. Wenn man zu dieser Bestimmung ältere Kulturen verwendet, kommt man in Gefahr, ungenaue Werte zu erhalten, weil sich in solchen Kulturen eine große Menge Involutionsformen vorfinden, die vielleicht bei anderen Konzentrationen plasmolysiert werden als normale Zellen.

Die mit der plasmolytischen Methode aufgefundenen Turgorwerte sind für Steinberghefe und Delfter Preßhefe dieselben. Bei 0,275—0,28 Mol. NaCl tritt eben sichtbare Plasmolyse ein. Bekanntlich übt 0,1 Mol. NaCl einen osmotischen Druck von ± 3,5 Atmosphären aus, der Turgordruck der Hefe ist also 9,8 Atm., wenn die Zellen auf Fischer-Substrat gezüchtet sind; da diese aber eine osmotische Leistung von 0,04 Mol. NaCl hat, beläuft sich der Turgordruck, wenn die Hefe in reinem Wasser gewaschen wäre, auf 0,24 Mol. NaCl oder 8,4 Atm. oder 8,65 kg auf 1 qcm. Der Turgordruck dieser Saccharomyceten ist also beträchtlich höher als jener der Schizomyceten, aber nicht so groß, wie d'Arsonval annahm (1). Es sei darauf hingewiesen, daß die hier gefundenen Werte den natürlichen Verhältnissen nicht entsprechen. Wenn man Preßhefe, die man gerade von der Fabrik bezogen hat, auf ihre Turgorgröße prüft, so findet man für diese einen Wert von 0,4 Mol. NaCl. Züchtet man sie auf Traubenmostgelatine oder Rosinendekokt, so steigt der Turgordruck bis auf 0,6 Mol. NaCl, auf Bierwürzegelatine gezüchtet, beläuft sich der Turgor auf 0,4 Mol. NaCl.

Es ist jetzt die Frage, ob die mit der plasmolytischen Methode erhaltenen Werte den osmotischen Druck selbst vorstellen oder ein Gemisch anderer Drucke. Im allgemeinen kann man bei den Werten, die man mit der plasmolytischen Methode bekommt, zwei Teile unterscheiden: 1) den eigentlichen Turgordruck, und 2) den Druck, den die gedehnte Zellwand ausübt. Wenn die Zellwand durch das turgeszente Protoplasma gedehnt ist, wird man eine Lösung von gewisser Konzentration brauchen, um das Protoplasma so weit zu kontrahieren, bis diese Dehnung vollständig ausgeglichen ist. Erst wenn dieses der Fall ist, tritt eigentliche Plasmolyse, d. h. Loslösung von der Zellwand, ein. Es ist klar, daß man hierdurch einen zu großen Wert für den Turgordruck der Zelle finden wird, der nun ebensoviel zu groß ist, als sich der osmotische Druck der Lösung beläuft, die nötig war zur Ausgleichung der Zellwanddehnung.

Den eigentlichen Turgordruck kann man wiederum in drei Teile zerlegen: 1) den osmotischen Druck, 2) den Quellungsdruck des Protoplasmas, und 3) die Oberflächenspannung. Der letztere Druck wirkt in entgegengesetzter Richtung als die beiden anderen. Dem Quellungsdruck des Protoplasmas kommt in Zellen mit einem dünnen wandständigen Plasmabelag und einer großen zentralen Vakuole nur sehr wenig Bedeutung zu. Die Sache ist aber ganz anders gelegen, sobald der Plasmabelag dicker wird und demzufolge die Vakuole kleiner; man ist in diesem Fall nicht mehr berechtigt, ohne weiteres den plasmolytisch gefundenen Turgordruck dem osmotischen Druck gleich zu setzen.

Die Oberflächenspannung wirkt dem osmotischen Druck entgegen

und verringert also die Wirkung. Man muß also bei dem gefundenen Wert des Turgordrucks jenen der Oberflächenspannung addieren. Zur Bestimmung dieser Spannung denke man sich eine Hefezelle mit einem Protoplasmabelag bestimmter Dicke und einer zentralen Vakuole. Diese Zellen habe einen Radius von 3,5 μ und die Vakuole einen von 2 μ. Unter der Annahme, daß das Protoplasma eine Oberflächenspannung habe, die jener des Quinckeschen Eiweißes gleich kommt, und also von 0,05934 g auf 1 qcm ist, und daß die Oberflächenspannung des Wassers 0,08253 g auf 1 qcm beträgt, so resultiert ein nach dem Zellenzentrum gerichteter Druck von 0,02319 g auf 1 qcm. Durch Anwendung der Kauflerschen Abteilung (zweiter Beweis 14) auf diesen Fall erhält man für $\varrho_1 = 2\,\mu$ ϱ_8 = Zellenradius $- \varrho_1 = 1{,}5\,\mu$ und $p - p_1$ = den Teil des osmotischen Drucks, der von der Oberflächenspannung neutralisiert wurde. Die Gleichung:

$$p - p_1 = 2\sigma\left(\frac{1}{\varrho} + \frac{1}{\varrho_8}\right) \quad \sigma = \text{Oberflächenspannung}$$

wird dann nach Substitution der gefundenen Werte:

$$p - p_1 = 2 \times 0{,}02319\left(\frac{1}{0{,}0002} + \frac{1}{0{,}00015}\right) = 541 \text{ g auf 1 qcm } 6{,}541 \text{kg auf 1 qcm.}$$

Da 0,1 Mol. NaCl einen Druck von $\pm$ 3,605 kg auf 1 qcm ausübt, ist also der gefundene Druck äquivalent mit 0,014 Mol. NaCl. Druckdifferenzen von solcher Kleinheit können aber mittels der plasmolytischen Methode nicht beobachtet werden, so daß man aus dieser Erwägung schließen kann, daß man berechtigt ist, die Oberflächenspannung zu vernachlässigen.

Betrachtet man die zweite Fehlerquelle, die Ausdehnung der Zellwand, so kann man beobachten, daß bei der Plasmolyse sich die Zellwand, wie schon vorher erörtert, erst bei Einwirkung starker Lösungen vom Protoplasma ablöst, die Zellwanddehnung also sehr beträchtlich ist. Dessenungeachtet braucht man dieser Tatsache keine Rechnung zu tragen, weil die Plasmolyse schon zwischen zwei Zellen stattfindet, wenn die Zellwand im Kontrahieren begriffen ist. Wenn man nur noch eine eben sichtbare Plasmolyse bei der Scheidewand vor sich hat, beobachtet man, daß die Zellwand auch schon wieder normal gedehnt erscheint und das Zellvolumen folglich seine vorherige Größe wieder bekommen hat.

Anders ist die Sache bei der dritten Fehlerquelle, dem Quellungsdruck des Protoplasmas, gelegen. Bei den Saccharomyceten ist man nicht berechtigt, diesen Druck zu vernachlässigen, weil das Protoplasma eine relativ beträchtliche Dicke hat. Es ist mir nicht gelungen, den Wert des Quellungsdrucks zu bestimmen, wegen der Schwierigkeiten, die sich bei den kryoskopischen Messungen zeigen. Dieser Quellungsdruck ist also eine unbekannte Größe, welcher man Rechnung zu tragen genötigt ist. Die plasmolytischen Werte stellen also immer osmolytischen Druck + Quellungsdruck des Protoplasmas dar.

Zum besseren Verständnis dieser Frage wurden auch einige kryoskopische Versuche angestellt. Es wurde die Methode verwendet, die Pantanelli (26) angegeben hat zur Bestimmung der Gefrierpunkterniedrigung des ausgepreßten Saftes von Aspergillus niger. Preßhefe wurde auf einem Substrat kultiviert, das zusammen mit den nötigen Salzen (0,1 Proz. Dikaliumphosphat, 0,02 Proz Magnesiumsulfat, 0,01 Proz. Chlorcalcium), 1 Proz. Asparagin und 10 Proz. Rohrzucker enthielt. Nach einiger Zeit, als die Masse gut gegärt hatte, wurde die

Nährlösung abgegossen und von den auf dem Boden gelegenen Hefezellen der Turgor mit der plasmolytischen Methode bestimmt. Dann wurde die Hefemasse mit Filtrierpapier getrocknet, ein kleiner Teil der Masse gewogen, über Schwefelsäure getrocknet und wieder gewogen. Als so der Wassergehalt der Hefe bekannt war, wurde die Hauptmasse gewogen und mit Quarzsand verrieben. Die Verreibung wurde mikroskopisch kontrolliert; wenn in einem Gesichtsfelde nur noch wenige intakte Zellen zu sehen waren, wurde sie als genügend betrachtet. Dieser so hergestellte Brei wurde in destilliertem Wasser aufgeschwemmt und einige Zeit sich selbst überlassen. Nachher wurde die Aufschwemmung vorsichtig abgegossen und so fast vollständig vom Sande getrennt. Von dieser Emulsion wurde mit einem Eykmannschen Apparat die Gefrierpunktserniedrigung bestimmt.

Versuch I. Wassergehalt der Hefemasse 2,7125 g.

Verdünnungsfaktor (Verdünnung mit 10 ccm Wasser $\frac{10 + 2,7125}{2,7125} = 4,7$.

Gefrierpunkt des Wassers —0,75°.
„ der Aufschwemmung —1,055°.
Gefrierpunkterniedrigung der Aufschwemmung —0,305°.
Δ des Saftes = 1,43°.
Δ von 1 Mol. KNO_3 nach Loomis (15) = 3,41°.
Der Preßsaft war also osmotisch äquivalent mit 0,42 Mol. KNO_3.
Turgor (plasmolytisch gefunden) 0,38 „ „

Versuch II. Wassergehalt: 3,8 g.

Verdünnungsfaktor (aufgeschwemmt in 10 ccm Wasser) $\frac{10 + 3,8}{3,8} = 3,6$.

Gefrierpunkt des Wassers —1,6°.
„ der Aufschwemmung —2,3°.
Gefrierpunktserniedrigung der Aufschwemmung 0,7°.
Δ des Saftes = 2,5°.
Δ eines Mol. NaCl nach Nernst und Abegg (20) = 3,6°.
Der Preßsaft war also osmotisch äquivalent mit 0,7 Mol. NaCl.
Turgor (plasmotisch bestimmt) 0,4 „ „

Diese auf kryoskopischem Wege gefundenen Zahlen sind also nicht, wie man zu erwarten berechtigt war, niedriger als die plasmolytischen Werte, sondern höher; auch schwankt die Differenz des plasmolytischen und kryoskopischen Wertes nicht unerheblich, obwohl unter den nämlichen Bedingungen bestimmt. Dies beweist schon die Unbrauchbarkeit dieser Methode, die noch klarer zu Tage tritt, wenn man die verschiedenen Fehlerquellen in Betracht zieht.

Verreibt man die Hefezellen in einem Mörser, so bekommt man nicht nur den Zellsaft aus der Vakuole, sondern auch das Protoplasma und die in diesem imbibierten Lösungen. Dieses wird dazu beitragen, die Gefrierpunktserniedrigung zu vergrößern. Da das Protoplasma das eine Mal stärker imbibiert sein wird wie das andere Mal, wird diese Vergrößerung selbst wieder schwanken, wie aus den Versuchen ersichtlich ist. Diese Fehlerquelle kommt selbstverständlich nur dann in Betracht, wenn das Plasma sehr dick ist; Pantanelli, der kryoskopische Versuche bei Aspergillus niger anstellte, hatte ihr viel weniger Rechnung zu tragen, da hier nur die jüngeren Zellen eine beträchtliche Protoplasmamasse besitzen.

Eine andere Fehlerquelle entsteht dadurch, daß beim Verreiben der Hefezellen Enzyme frei werden, zumal Invertine, die bekanntlich schon, wenn die Zellen intakt sind, herausdiffundieren und eventuell in der

Zelle enthaltene Polysaccharide in Hexosen verwandeln, so die Gefrierpunkterniedrigung der Aufschwemmung vergrößernd, was ebenfalls stattfindet durch Beteiligung der kapillar zwischen den Zellen zurückgehaltenen Nährlösung, welche ganz zu vertreiben fast unmöglich ist, zumal weil durch Auswaschen mit destilliertem Wasser viele Zellen platzen und man so Gefahr läuft, die Gefrierpunktserniedrigung herabzusetzen.

Aus diesen Erwägungen ist ersichtlich, daß die kryoskopische Methode bei den Hefezellen keine guten Ergebnisse bringen kann, weil man es mit Fehlerquellen zu tun hat, deren Ausbreitung und Bedeutung man nur ungenügend oder gar nicht kennt, und die außerdem offenbar sich selbst nicht immer gleich bleiben. Infolge dieses Umstandes war es mir natürlich auch nicht möglich, die Größe des Quellungsdrucks des Protoplasmas zu bestimmen.

3. Schwankung des Turgordrucks unter gleichbleibenden osmotischen Bedingungen.

Der Turgordruck der Hefe ist den verschiedensten Schwankungen unterworfen. Die Hefezellen antworten auf viele Substratänderungen mit einer Turgorschwankung; es ist dabei nicht nötig, daß mit dieser Substratänderung auch eine Schwankung von deren osmotischer Leistung einhergeht, auch auf einem und demselben Substrat vollziehen sich unter gewissen Bedingungen Turgorschwankungen. Hier werden zuerst nur jene Bedingungen berücksichtigt, welche zu Tugorschwankungen unter gleichbleibenden osmotischen Verhältnissen Anstoß geben.

Einfluß der Kohlenstoffquelle. — Es ist den Hefezellen bekanntlich nicht gleichgültig, welche Substanzen als Kohlenstoffquelle dargeboten werden. Beijerinck (3) hat nachgewiesen, daß die beste C-Quelle für Hefe die Zucker sind. Glycerin hat in dieser Hinsicht nur geringen Nährwert.

Es wurden einige Versuche angestellt, um zu sehen, mit welcher der drei Substanzen, Rohrzucker, Mannit und Asparagin, als C-Quelle die Preßhefe den größten Turgor aufwies. Die Hefe wurde auf einem Substrat gezüchtet, das neben den nötigen Salzen, 1 Proz. Asparagin als N-Quelle und 0,5 Mol. NaCl, um dem Substrat eine größere osmotische Leistung zu geben, enthielt. Die Ergebnisse des Versuchs zeigt Tab. I.

Tabelle I.

C-Quelle	N-Gehalt	Plasmolytische Grenzkonzentration nach 24 Stunden
Rohrzucker 1 Proz.	0,432 Proz.	0,8 Mol. NaCl
Asparagin 1 „	0,384 „	0,6 „ „
Mannit 1 „	0,432 „	0,5 „ „

Das verschiedene Verhalten des Turgors diesen C-Quellen gegenüber ist also auf einen ungleichen C-Gehalt nicht zurückzuführen. Es geht aus diesem Versuche hervor, daß die mehrwertigen Alkohole nicht nur aus ernährungsphysiologischer Hinsicht den Zuckern nachstehen, sondern auch was den Turgor anbelangt. Das Gleiche gilt für das Asparagin, das bekanntlich eine vorzügliche N-Quelle ist, als C-Quelle aber weniger als die Zucker leistet.

Einfluß der N-Quelle. — Die ernährungsphysiologische und der Turgordruck anregende Leistungd er C-Quelle geht also parallel. Anders

liegt die Sache bei der N-Quelle. Geprüft wurden Asparagine und Ammoniumtartrat. Die Hefe wurde auf dem oben angeführten Substrat gezüchtet, als C-Quelle diente 1 Proz. Rohrzucker (siehe Tab. II).

Tabelle II.

C-Quelle	N-Gehalt	Plasmolytische Grenzkonzentration nach 24 Stunden
Asparagin 1 Proz.	0,224 Proz.	0,60 Mol NaCl
Ammoniumtartrat 1 „	0,140 „	0,65 „ „

Obwohl, wie Beijerinck zeigte, Asparagin eine viel bessere N-Quelle darstellt, als Ammoniumtartrat, ist der Turgor bei diesen beiden N-Quellen gleich groß; bei Ammoniumtartrat ist er selbst noch etwas größer, was aber darauf zurückzuführen ist, daß das Ammoniumtartrat impermeabel, Asparagin dagegen teilweise permeabel ist; außerdem ist der isotonische Koëffizient des ersten größer als jener des zweiten. Hierdurch kommt es, daß das erste Substrat den Hefen gegenüber eine etwas größere osmotische Leistung hat als das zweite.

Einfluß der Temperatur. — Um zu erfahren, welchen Einfluß die Temperatur auf die Größe des Turgordrucks ausübt, wurden zwei Kulturen auf Bierwürzegelatine + 0,5 Mol. NaCl angefertigt; die eine wurde bei 19° aufgestellt, die andere bei 9°. Nach 7 Stunden wurde die plasmolytische Grenzkonzentration ermittelt, wozu die beiden Kulturen bei einer Temperatur von 17° untersucht wurden, um Turgordifferenzen rein physikalischen Ursprungs auszuschließen. Der Turgordruck erwies sich für die zwei Kulturen als derselbe, nämlich 0,8 Mol. NaCl. Die Temperatur übt also keinen Einfluß auf den Turgordruck aus.

Copeland (5) hat zwei Turgormaxima bei Keimlingen nachgewiesen, eines bei 37°, das andere bei 1—4°, außerdem ein Turgormaximum bei 18°. Wie ersichtlich, habe ich solche Maxima nicht nachweisen können, obwohl die Temperaturen, bei welchen gearbeitet wurde, doch weit genug voneinander entfernt waren.

Einfluß von Sauerstoffmangel. — Bei den Schimmelpilzen erhöht eine gute Durchlüftung den Turgordruck, wie Pantanelli dieses für Aspergillus niger gezeigt hat. Die Zellen einer Kultur, die mit einem Wattepfropfen fest verschlossen war, zeigten einen Turgordruck äquivalent mit jenem von 17 Proz. $NaNO_3$, dagegen zeigten die Zellen einer nur lose gedichteten Kultur einen Turgor von 23 Proz. $NaNO_3$.

Dergleichen Verhältnisse habe ich bei der Preßhefe nicht beobachten können; es war gleichgültig, ob sie aërob oder anaërob gezüchtet wurde, sie zeigte denselben Turgordruck. Zwei Kulturen wurden auf Bierwürzegelatine + 0,5 Mol. NaCl angefertigt, die eine in einem Petri-Schälchen, die andere in einem Reagenzröhrchen auf schief erstarrter Gelatine. In diesem Röhrchen wurde nach Buchner anaërob gezüchtet. Nach 4 Stunden belief der Turgor sich auf 0,7 Mol. NaCl bei aërober Kultur. Jetzt wurde die anaërobe Kultur geöffnet und der Turgor jener Zellen ermittelt. Er kam jenem der Zellen der aëroben Kultur gleich.

Man kann gegen diese Versuchsanordnung einwenden, daß das Pyrogallol in 4 Stunden nicht allen Sauerstoff absorbiert habe, da doch erst nach 24 Stunden aller Sauerstoff fortgeschafft ist. Bekanntlich wird aber der größte Teil in den ersten Stunden absorbiert, so daß die Hefe jedenfalls in einem Medium von sehr geringer Sauerstoffspannung ge-

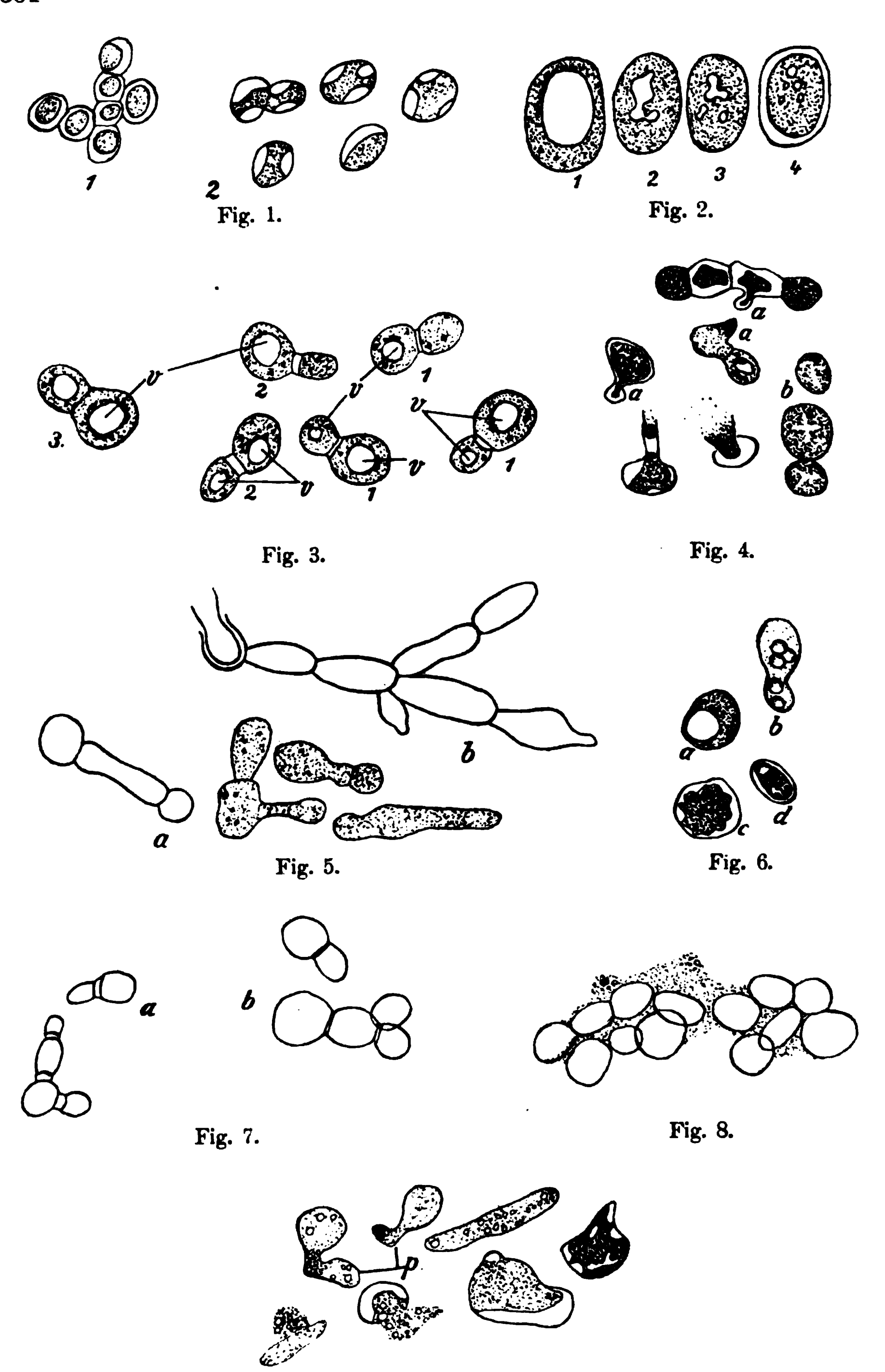


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 9.

Figurenerklärung.

Gezeichnet mit Zeichenokular No. 92 und Oel.-Imm. $^1/_{12}$ (Tubuslänge 170 mm) Leitz.

Fig. 1. Mit starkem Glycerin plasmolysierte Preßhefe.

Fig. 2. Schematische Skizze des Verlaufs der Plasmolyse mit Umbildungen der Vakuole.

Fig. 3. Plasmolyse der Hefe in schwächeren Lösungen (V = Vakuole): 1) in 0,5 Mol. NaCl, 2) in 2 Mol. NaCl und 3) in 0,3 Mol. NaCl.

Fig. 4. Geplatzte Hefen mit Essigsäure-Gentianaviolett gefärbt und fixiert. a) plasmoptyseartige Auswüchse, b) differente Formen der Risse.

Fig. 5. Involutionsformen der Hefen in einer Lösung von 1 Mol. NaCl.

Fig. 6. Hefe in 1 Mol. NH_4Cl und mit Eosin gefärbt. Vakuole noch ungefärbt. Tonoplast also noch lebendig. Polioplasma schon abgestorben. Bei *d* ist die Vakuole hinausgepreßt, bei *a* Vakuolenwand noch lebendig, bei *c* ist sie abgestorben, bei *b* ist eine Zelle geplatzt und die Vakuolen frei.

Fig. 7. Hefezellen in 2 Mol. NaCl plasmolysiert, a) von einer Kultur von 0,04 Mol. NaCl, b) von einer Kultur von 1 Mol. NaCl.

Fig. 8. Agglutinierte Hefe, gezüchtet auf 2 Mol. NaCl, plötzlich in Aq. dest. übertragen; fixiert und gefärbt mit Essigsäure-Gentianaviolett.

Fig. 9. Geplatzte Hefen. Sie war 30 Stunden in einer Lösung von 1 Mol. NH_4Cl belassen und waren nachher in Aq. dest. übertragen. *p* plasmoptyseartige Gebilde.

züchtet wurde. Man ist also immerhin berechtigt, zu behaupten, daß die Preßhefe sich ziemlich indifferent verhält gegenüber Sauerstoffmangel, was den Turgor anbelangt.

Einfluß des Nahrungsmangels. — Wenn man die Preßhefe auf einem Substrat züchtet, welches die nötigen Salze enthält, 1 Proz. Asparagin als N-Quelle und 1 Proz. als C-Quelle und außerdem 10 Proz. Gelatine und 0,5 Mol. NaCl, dann haben die Zellen nach 14 Stunden einen Turgordruck von 0,75 Mol. NaCl. Säet man von dieser Kultur auf ein Substrat aus, das nur 0,5 Mol. NaCl und 10 Proz. Gelatine enthält, also fast ohne Nährwert ist, so beobachtet man, daß der Turgordruck schnell fällt und auf einer niedrigeren Stufe konstant wird, wie Tab. III zeigt.

Tabelle III.

Zeit	Plasmolytische Grenzkonzentration
0 Std.	0,75 Mol. NaCl
1 „	0,40 „ „
2 „	0,40 „ „
5 „	0,40 „ „

Es zeigt sich also keine Erhöhung des Turgordrucks in den ersten Stunden, wie Pantanelli dieses bei Aspergillus niger beobachtete.

Einfluß des Alters. — Es war von Interesse, zu erfahren, ob ältere Kulturen denselben Turgordruck aufweisen wie jüngere oder ob mit dem Alter der Turgordruck Schwankungen unterworfen ist, wie Pfeffer (27) und Reinhardt (29) dieses schon für andere Pflanzen nachgewiesen haben. Preßhefe wurde hierzu auf Rosinendekokt gezüchtet und der Turgordruck mit der plasmolytischen Methode jeden Tag bestimmt. Die Ergebnisse zeigt Tab. IV.

Tabelle IV. Geimpft den 23. Dez. 1904, 4 Uhr 30 Min. p. m.

Zeit	Plasmolytische Grenzkonzentration
24. Dez. 8 Uhr 30 Min. a. m.	0,6 Mol. NaCl
25. „ 4 „ 15 „ p. m.	0,6 „ „
26. „ 4 „ 30 „ „ „	0,6 „ „

Am 26. Dez. traten so viele Involutionsformen auf und es starben so viele Zellen, daß es unmöglich war, die plasmolytische Grenzkonzentration weiter zu ermitteln. So kann des weiteren keine Rede sein von einer Turgorerniedrigung, da, soweit keine Sporen gebildet wurden, die Zellen im Absterben begriffen waren.

Diese Ergebnisse stimmen mit jenen Eschenhagens (6) überein, der mit Schimmelpilzen arbeitete, nicht aber mit jenen Pantanellis, der mit demselben Versuchsobjekt arbeitete, und angibt, daß wohl Turgorverringerung mit dem Alter stattfindet.

Im allgemeinen kann man sagen, daß die Preßhefe weniger von äußeren Bedingungen beeinflußt wird, was den Turgor anbelangt, als die von Pantanelli untersuchten Schimmelpilze.

4. Permeabilität der Hefe.

Bekanntlich hat Overton (21—25) wichtige Untersuchungen über die Permeabilität der Pflanzenzelle veröffentlicht. Er arbeitete zuerst mit Wurzelhaaren von Hydrocharis morsus ranae (21), später auch mit Spirogyra (23). Als Kriterium der Permeabilität einer gegebenen Substanz gegenüber wurde die Unfähigkeit betrachtet, die Zellen zu plasmolysieren. In den Arbeiten mit Spirogyra konnte die Permeabilität noch leichter festgestellt werden, da viele Substanzen mit dem Zellsaft dieser Alge einen schwarzen Niederschlag geben. Er schloß aus seinen Versuchen, daß gerade diejenigen Substanzen intrameat sind, die sogenannt „lipoïdlöslich“ sind, wie z. B. die Anaesthetica und die Vitalfarbstoffe. Auf diese Tatsache gründete er seine bekannte Theorie über die Narkose (25).

Hamburger (10) wendet gegen Overtons Versuche ein, daß es sehr gut möglich sei, daß eine Substanz in einer bestimmten Konzentration Plasmolyse hervorrufe, dessenungeachtet aber teilweise intrameat sei.

Fischer (7) hat sehr eigentümliche Permeabilitätsverhältnisse bei den Bakterien gefunden, wie dieses schon vorher erwähnt ist; diese Ergebnisse sind jedenfalls nicht im Einklang mit der Overtonschen Theorie, und zeigen, daß man nicht ohne weiteres die Ergebnisse, die man bei Hydrocharis und Spirogyra gefunden, auf alle Pflanzen auszudehnen berechtigt ist. Hierdurch war es auch angezeigt, die Permeabilitätsfrage bei den Hefezellen näher zu studieren.

Die Preßhefe wurde immer auf dem von Fischer angegebenen und schon beschriebenen Substrat gezüchtet, niemals wurden Kulturen benutzt, die älter als 24 Stunden waren. Eine Substanz wurde als nicht intrameat betrachtet, wenn es in einer Konzentration, die isosmotisch mit 0,25—0,33 Mol. NaCl war, eben sichtbare Plasmolyse hervorrief, als intrameat, wenn man zu diesem Zweck höhere Konzentrationen brauchte. Jeder Versuch dauerte nur wenige Minuten, also ganz anders wie bei Geweben, wo sie oft 24 Stunden anhielten. Dieses war bei den Hefen

aber auch nicht nötig, weil die zu prüfende Lösung sogleich alle Zellen erreichen konnte und die Plasmolyse also fast momentan eintrat. Dessenungeachtet habe ich oftmals Zellen in einer nicht plasmolysierenden Lösung längere Zeit belassen, doch trat niemals dann später noch Plasmolyse ein.

Die Werte von 0,25—0,33 Mol. NaCl habe ich zusammengeworfen, da es sehr schwierig ist, auf 0,05 Mol. genau die plasmolytische Grenzkonzentration festzustellen und hier also leicht kleine Versuchsfehler einschlüpfen können. Man muß auch beachten, daß, da die plasmolytische Grenzkonzentration einen relativ hohen Wert erreicht, selbst bei nicht intrameaten Substanzen man oft stark konzentrierte oder auch

Tabelle V. Preßhefe der Delfter Gist en Spiritusfabriek.

Name	Formel	Molekulargewicht	Plasmolytische Grenzkonzentration in Mol. der Stoffe	KNO_3-Wert der Grenzkonzentration	Deplasmolyse nach 24 Stunden
Kochsalz	$NaCl$	58,5	0,275	0,275	keine Deplasmolyse
Calciumchlorid	$CaCl_2$	110,9	0,2	0,267	″ ″
Dextrose	$C_6H_{12}O_6$	180,1	0,4—0,5	0,27—0,33	Plasmolyse ganz verschwunden
Kaliumchlorid	$KClO_3$	122,6	0,33	0,33	Plasmolyse etwas zurück
Ammonium bromid	NH_4Br	98	0,273	0,273	keine Deplasmolyse
Ammoniumchlorid	NH_4Cl	53,5	0,25	0,25	″ ″
Ammoniumsulfat	$(NH_4)_2SO_4$	132,2	0,25	0,33	″ ″
Ammoniumtartrat	$(NH_4)_2C_4H_4O_6$	208	0,25	0,33	″ ″
Dikaliumphosphat	K_2HPO_4	174,3	0,2—0,25	0,267—0,33	etwas deplasmolysiert
Kaliumnitrat	KNO_3	101,2		0,279	kaum merkb. Deplasmol.
Bariumchlorid	$BaCl_2 + 2\ aq$	244,3	0,21	0,28	keine Deplasmolyse
Bariumnitrat	$Ba(NO_3)_2$	261,5	0,24	0,32	
Kaliumsulfat	K_2SO_4	174,4	0,2	0,267	″ ″
Kaliumacetat	CH_3CO_2K	97,86	0,25	0,25	kaum merkb. Deplasmol.
Kaliumbromid	KBr	119,1	0,3	0,3	
Ammoniumlactat	$NH_4C_3O_3H_5$	107	0,275	0,275	keine Deplasmolyse
Calciumnitrat	$Ca(NO_3)_2 + 4\ aq$	236,2	0,18	0,24	″ ″
Chloralhydrat	$CCl_3CH(OH)_2$	165,4	0,415	0,275	″ ″
Ureum	$CO(NH_2)_2$	60	0,4	0,267	Plasmolyse ganz zurück
Mannit	$C_6H_8(OH)_6$	182,1	0,57	0,33	etwas deplasmolisiert
Magnesiumsulfat	$MgSO_4 + 7\ aq$	246,6	0,48	0,32	
Strontiumchlorid	$SrCl_2 + 6\ aq$	266,5	0,24	0,32	keine Deplasmolyse
Natriumbromid	$NaBr + 4\ aq$	175,1	0,27	0,27	
Glycerin	$C_3H_5(OH)_3$	92,1	0,66	0,44	
Saccharose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342	0,9	0,6	
Natriumphosphat	$Na_3PO_4 + 12\ aq$	380,4	0,22	0,37	
Natriumthiosulfat	$Na_2S_2O_3 + 5\ aq$	248,3	0,33	0,44	
Laktose	$C_{12}H_{22}O_{11} + 2aq$	378,2	0,81	0,54	
Asparagin	$C_4H_8N_2O_3$	132	1,00	0,66	
Ammoniumoxalat	$(COO)_2(NH_4)_2$	124	0,46	0,66	
Glykokoll	$CH_2NH_2CO_2H$	75	0,83	0,56	
Zitronsäure	$C_6H_8O_7 + aq$	210	0,5—1	0,33—0,66	
Weinsäure	$C_4H_6O_6$	140	0,5—1	0,33—0,66	
Aethylalkohol	C_2H_5OH	46,1	5—8	3,3—5,3	
Maltose	$C_{12}H_{22}O_{11} + aq$	360,2	1—2	0,66—1,33	
Aethyläther	$(C_2H_5)_2O$	74,1	keine Plasmol.		
Kaliumeisencyanür	$K_4FeCy_6 + 3\ aq$	422,9	0,35	0,93	
Kaliumeisencyanid	$K_6Fe_2Cy_{12}$	659,4	0,23—0,45	0,92—1,8	
Antipyrine	$C_{11}H_{12}N_2O$	188,2	1—2	0,66—1,33	

wohl einmal übersättigte Lösungen benutzt, wodurch auch Ungenauigkeiten entstehen können.

Um dem Einwand, den Hamburger gegen Overtons Methode angeführt hat, zu begegnen, wurde von jeder Substanz die Grenzkonzentration bestimmt, wodurch sich eine ganze Menge Substanzen intrameat erwiesen, die man auf den ersten Blick nicht dafür gehalten hätte, weil sie in stärkeren Konzentrationen prompt plasmolysierten.

In den folgenden Tabellen (V [s. p. 387] und VI) sind die plasmolytischen Grenzkonzentrationen einer Reihe Substanzen der Delfter Preßhefe und Rasse Steinberg gegenüber niedergelegt. Die Lösung der Substanzen geschah nach der Methode von Raoult.

Tabelle VI. Heferasse Steinberg der königlichen Versuchsstation in Geisenheim am Rhein.

Name	Formel	Molekulargewicht	Plasmolyt. Grenzkons. in Mol. der Stoffe	KNO_3-Wert der Grenzkonzentr.
Kochsalz	$NaCl$	58,5	0,28	0,28
Kaliumnitrat	KNO_3	101,2		0,3
Ammoniumchlorid	NH_4Cl	53,5	0,27	0,27
Natriumnitrat	$NaNO_3$	85,1	0,3	0,3
Ammonium oxalat	$(COO)_2(NH_4)_2$	124	0,4	0,53
Natriumthiosulfat	$Na_2S_2O_3 + 5$ aq	248,3	0,33	0,44
Saccharose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342	1,2	0,8
Laktose	$C_{12}H_{22}O_{11} + 2$ aq	378,2	1,2	0,8
Maltose	$C_{12}H_{22}O_{11}$ + aq	360,2	1,2	0,8
Dextrose	$C_6H_{12}O_6$	180,1	1,2	0,8
Glycerin	$C_3H_5(OH)_3$	92,1	0,6	0,4
Antipyrin	$C_{11}H_{12}N_2O$	188,2	1,66—0,83	1,1—0,55
Aethlyläther	$(C_2H_5)_2O$	74,1	keine Plasmolyse	
Mannit	$C_6H_8(OH)_6$	182,1	0,5	0,33
Aethylalkohol	C_2H_5OH	46,1	5—8	3,3—5,3
Glykokoll	CH_2NH_2COOH	75	0,5	0,33
Ureum	$CO(NH_2)_2$	60	0,5	0,33

Es ist aus der ersten Tabelle ersichtlich, daß, wenn man die Preßhefe in einer plasmolysierenden Lösung von Traubenzucker beläßt, die Plasmolyse in 24 Stunden vollständig zurückgeht. Dieses ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Preßhefe ebensogut für Traubenzucker permeabel ist als Steinberghefe, nur ist die Schnelligkeit, mit welcher der Zucker bei diesen Rassen eintritt, etwas verschieden. Es ist wohl wahrscheinlich, daß diese Schnelligkeit nicht nur bei den verschiedenen Rassen variiert, sondern auch bei einer und derselben Abart, wenn sie unter verschiedene Kulturbedingungen gebracht wird.

Auch in Ureum wird die Preßhefe deplasmolysiert. Ureum dringt also auch langsam in die Zellen ein, was im Einklang mit den Befunden Overtons steht.

(Schluß folgt.)

Ueber die Zersetzung des Kalkstickstoffs.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis.**

(Schluß.)

C. Versuche mit Reinkulturen.

Unter Benutzung der isolierten Bakterienstämme, zu denen in einigen Fällen mehrere unserer Sammlung entnommene Arten hinzutraten, wurden bisher die folgenden Versuche durchgeführt:

1) Ammoniakbildung aus Kalkstickstoff bei Zimmertemperatur, innerhalb 3 Wochen (entsprechend den Versuchen mit Rohkulturen).

2) Kalkstickstoffzersetzung bei 10, 20 und 30°, innerhalb einer Woche.

3) Kalkstickstoffzersetzung bei vermehrtem und vermindertem Luftzutritt, bei Zimmertemperatur, innerhalb 1, 2 und 3 Wochen.

4) Kalkstickstoffzersetzung bei Berücksichtigung des verdunstenden Ammoniaks, bei Zimmertemperatur, innerhalb 6 Wochen.

5) Harnstoffzersetzung durch Kalkstickstoffbakterien in 2-proz. Harnstoffbouillon, bei Zimmertemperatur, innerhalb 3, 6 und 12 Tagen.

6) Harnstoffzersetzung durch Kalkstickstoffbakterien in 0,08-proz. Harnstoff-Bodenextrakt, bei Zimmertemperatur, innerhalb 2 Wochen.

7) Kalkstickstoffzersetzung durch Harnstoffbakterien, bei Zimmertemperatur, innerhalb 2 Wochen.

8) Peptonzersetzung durch Kalkstickstoffbakterien, bei Zimmertemperatur, innerhalb 5 und 10 Tagen.

Zur Durchführung der Kalkstickstoffumsetzungsversuche wurde die für die Versuche mit Rohkulturen benutzte Lösung (Bodenextrakt + 2 ‰ Kalkstickstoff + 0,5 ‰ K_2HPO_4 + 0,1 ‰ Asparagin + 0,1 ‰ Traubenzucker) verwendet. Die zum Versuch 5 benötigte Harnstoffbouillon war unter Benutzung gewöhnlicher Fleischpeptonbouillon durch Zusatz von 2 Proz. Harnstoff bereitet. Der zu Versuch 6 verwandte 0,08-proz. Harnstoff-Bodenextrakt enthielt außerdem, wie gewöhnlich, 0,5 ‰ K_2HPO_4; und die zu dem an letzter Stelle aufgeführten Versuch erforderliche Peptonlösung war durch Auflösung von 1 Proz. Pepton e carne Merck in Leitungswasser hergestellt. Sämtliche Lösungen wurden durch an 5 aufeinanderfolgenden Tagen stattfindendes, je halbstündiges Erhitzen im strömenden Dampf sterilisiert.

Für die unter 1, 2, 6 und 7 aufgeführten Versuchsreihen waren 200 ccm Rundkolben in Gebrauch, die mit je 50 ccm Lösung gefüllt waren. Die Impfung erfolgte unter Benutzung von Glaskapillaren durch seitlich am Kolbenhals angeschmolzene, horizontale, enge Ansatzstücke, die eine beim Oeffnen des weiten Kolbenhalses leicht mögliche Fremdinfektion mit nahezu vollständiger Sicherheit ausschließen. Zu den an dritter Stelle genannten Versuchen wurden teils 300 ccm Erlenmeyer-Kolben, teils große Reagensgläser ($2^1/_2$: 20 cm) verwendet, mit je 50 ccm Lösung gefüllt. Zur Versuchsreihe 4 wurden aus unten folgenden Gründen ebenfalls 300 ccm Erlenmeyer-Kolben mit je 50 ccm Lösung benutzt. Dagegen wurden die Versuchsreihen 5 und 8 in mit je 10 ccm Lösung gefüllten Reagenzgläsern (von der zu Kulturzwecken üblichen Größe, $1^1/_2$: 15 cm) durchgeführt.

Das Impfmaterial wurde stets einigen Tagen alten Fleischagarstrichkulturen entnommen. Nach Ablauf der Versuchsdauer wurde jedesmal die Reinheit der Kultur auf mikroskopischem Wege geprüft, nur bei Versuch 4, bei dem eine Fremdinfektion am ehesten erwartet werden konnte, schien mir auch die Prüfung durch Gußkulturen am Platze. In keinem Falle war eine Verunreinigung nachweisbar. Dieses günstige Resultat glaube ich wohl dem Umstande verdanken zu müssen, daß die stark alkalische Reaktion der Kalkstickstofflösung den Schimmelpilzen durchaus nicht zusagt (in den mit Erde angesetzten Versuchen konnte nie eine Schimmelvegetation beobachtet werden), und, wie aus den in Abschnitt A mitgeteilten, an einer 5 Tage aufbewahrten, durch Papier filtrierten, nicht sterilisierten und trotzdem unverändert gebliebenen Kalkstickstofflösung erlangten Analysenresultaten hervorgeht, auch die im Laboratorium vorkommenden Luftbakterien in der Kalkstickstofflösung ein zusagendes Nährmedium nicht fanden.

1) Zur ersten Versuchsreihe wurden herangezogen: Aus den Rohkulturen isoliert: Bacterium Kirchneri, Bacterium lipsiense (Stamm I und II, die sich nur durch etwas differente Farbennuancen auf Agar unterschieden), Bacterium vulgare var. Zopfii, Bacterium putidum, Bacillus mycoides; außerdem aus der Sammlung: Bacillus megatherium, mycoides und subtilis (alle drei aus dem hygienischen Institut Halle stammend), Bacterium vulgare und fluorescens L. et N. (beide aus dem Oberholzer Boden isoliert) und Bacillus Ellenbachensis (von Král bezogen). — Nach Verlauf von 3 Wochen wurde der vorhandene Ammoniakstickstoff unter Zufügung von Magnesia usta abdestilliert, in je 10 ccm $\frac{n}{20}$-Schwefelsäure aufgefangen und unter Benutzung von Kongorot als Indikator mit $\frac{n}{10}$-Ammoniak zurücktitriert. Die für je 50 ccm erlangten Resultate, die ich der Uebersichtlichkeit halber nach der Größe ordne, sind die folgenden:

(Tabelle siehe p. 391.)

Befähigt, in der benutzten Kalkstickstofflösung Ammoniak zu entwickeln, sind demnach nicht nur sämtliche durch das Anreicherungsverfahren erhaltene Arten, sondern auch mancher anderen Species scheint diese Eigenschaft zuzukommen. Allerdings übertreffen die beiden vorwiegend in der Kalkstickstofflösung angetroffenen neuen Arten die übrigen recht beträchtlich, doch ist es interessant, daß der seit Jahren im Laboratorium auf Fleischagar fortgezüchtete Stamm von Bac. megatherium sich als hervorragend befähigt erwies, die in Rede stehende Umsetzung zu bewirken. Was die verhältnismäßig recht geringe Zunahme an Ammoniak, die für Fluorescens, Subtilis und Mycoides zu verzeichnen war, anlangt, so muß es vorläufig dahingestellt bleiben, ob dieselbe dem Kalkstickstoff oder dem Asparagin entstammt. Für die erstere Annahme scheint mir das durchaus negative Verhalten zu sprechen, welches Bacterium vulgare und Bacillus Ellenbachensis in der verwendeten Lösung zeigten, sowie ferner das weiterhin anzuführende Verhalten von Bacillus mycoides in einer Harnstofflösung von geringer Konzentration. Dagegen sprechen für die zweite Möglichkeit Resultate, die sich ergeben, wenn man aus der benutzten Lösung den Kalkstickstoff fortläßt, so daß dieselbe nur 1 mg

1. Ammoniakbildung aus Kalkstickstoff bei Zimmertemperatur innerhalb 3 Wochen.

	Parallele	Zur Rücktitr. erforderlich ccm	Gebundene Säure ccm	N mg	Gegenüber steril Zunahme an N im Mittel mg
Steril	a.	8,3	1,7	2,38	
	b.	8,3	1,7	2,38	
Bact. Kirchneri	a.	3,4	6,6	9,24	6,44
	b.	4,0	6,0	8,40	
Bact. lipsiense, Stamm I	a.	4,3	5,7	7,98	6,02
	b.	3,7	6,3	8,82	
Bact. lipsiense, Stamm II	a.	5,3	4,7	6,58	5,11
	b.	4,0	6,0	8,40	
Bacillus megatherium	a.	5,6	4,4	6,06	3,61
	b.	5,7	4,3	5,92	
Bact. vulgare var. Zopfii	a.	6,0	4,0	5,60	3,36
	b.	5,8	4,2	5,88	
Bact. putidum	a.	7,3	2,7	3,78	1,33
	b.	7,4	2,6	3,64	
Bact. fluorescens	a.	7,3	2,7	3,78	0,91
	b.	8,0	2,0	2,80	
Bacillus subtilis	a.	8,0	2,0	2,80	0,56
	b.	7,8	2,2	3,08	
Bacillus mycoides (Halle)	a.	8,0	2,0	2,80	0.42
	b.	8,0	2,0	2,80	
Bacillus mycoides (Oberholz)	a.	8,0	2,0	2,80	0,42
	b.	8,0	2,0	2,80	
Bacillus Ellenbachensis	a.	8,3	1,7	2,38	—
	b.	8,2	1,8	2,52	
Bact. vulgare	a.	8,3	1,7	2,38	—
	b.	8,3	1,7	2,38	

Asparagin- und 1 mg Bodenstickstoff enthält, und in diese Lösung die Reinkulturen einimpft. Es fanden sich in diesem Falle bei dreiwöchiger Versuchsdauer an durch Magnesia usta abspaltbarem Stickstoff mehr als in den sterilen Kolben (0,42 mg) pro 50 ccm, wenn geimpft war mit

Bacterium Kirchneri	0,84	Bacterium putidum	0,84
„ lipsiense	0,84	„ fluorescens	0,70
Bacillus megatherium	0,91	Bacillus mycoides	0,91
Bacterium vulgare var. Zopfii	0,70	„ Ellenbachensis	0,98

Bei Abwesenheit von Kalkstickstoff wird demnach das Asparagin so gut wie vollständig zersetzt. Es muß, wie gesagt, der genaue Nachweis über die Herkunft der geringen Ammoniakmengen in der mit Bact. fluorescens, Bac. mycoides und subtilis beimpften Kalkstickstofflösung weiteren, mit Hilfe anders konstruierter Lösungen angestellten Versuchen überlassen bleiben, die ich vorläufig infolge ihrer relativ geringen praktischen Bedeutung glaubte zurückstellen zu dürfen.

Beachtenswert scheint mir die aus den mitgeteilten analytischen Befunden hervorgehende Tatsache zu sein, daß, während einerseits verwandtschaftlich einander sehr fernstehende Arten ganz ähnliche Fähigkeiten offenbaren, andererseits zweifellos nahe verwandte Stämme in

dieser Richtung sich durchaus verschieden verhalten. Auch in dieser Hinsicht stellt die Kalkstickstoffzersetzung ein Analogon zur Harnstoffzersetzung dar.

Um auch die Möglichkeit nicht ganz unerörtert zu lassen, ob etwa eine gegenseitige Förderung bei der Zersetzung stattfinde, wurden einige Kolben gleichzeitig mit verschiedenen Stämmen beimpft, und zwar ergaben sich für die folgenden Kombinationen nachstehende Resultate. Es wurden pro 50 ccm Lösung unter den gleichen Bedingungen, welche für die soeben besprochenen Versuche maßgebend waren, nach Subtraktion der in den sterilen Kolben vorhandenen Stickstoffmenge (2,38 mg) an Ammoniakstickstoff gefunden:

Bact. Kirchneri, lipsiense (Stamm II), vulgare var. Zopfii, putidum und Bac. mycoides	6,58
Bact. Kirchneri und lipsiense (Stamm II)	5,88
Bact. Kirchneri und vulgare var. Zopfii	5,60
Bact. lipsiense (Stamm II) und vulgare var. Zopfii	4,90
Bact. vulgare var. Zopfii und Bac. mycoides	1,82

Ein Vergleich mit den oben für die einzelnen Stämme mitgeteilten Zahlen läßt mit zweifelloser Deutlichkeit erkennen, daß eine spezifische Förderung nicht stattgefunden hat, sich vielmehr nur Durchschnittswerte ergeben haben.

2) Die zweite Versuchsreihe wurde zur Feststellung des Einflusses verschieden hoher Temperaturen, sowie gleichzeitig zur Ermittelung der Rapidität der Umsetzung (bei nur einwöchiger Versuchsdauer) unter Verwendung der isolierten Stämme durchgeführt. Die Temperaturen schwankten in dem ungeheizten Zimmer bezw. in den beiden Thermostaten etwa um 2°. Die für je 50 ccm Lösung in gleicher Weise wie bei der ersten Versuchsreihe erlangten analytischen Befunde sind die folgenden:

2. Ammoniakbildung aus Kalkstickstoff bei verschiedenen Temperaturen innerhalb 1 Woche.

Beimpft mit:	bei 10—12° C			bei 20—22° C			bei 30—32° C		
	z. Rücktitration ccm	Gebund. Säure ccm	N mg	z. Rücktitration ccm	Gebund. Säure ccm	N mg	z. Rücktitration ccm	Gebund. Säure ccm	N mg
Bact. Kirchneri	2,8	7,2	**10,08**	2,5	7,5	**10,50**	3,6	6,4	**8,96**
Bact. lipsiense (Stamm I)	8,3	1,7	**2,38**	2,7	7,3	**10,22**	3,2	6,8	**9,52**
Bact. vulg. var. Zopfii	8,4	1,6	**2,24**	7,7	2,3	**3,22**	8,0	2,0	**2,80**
Bact. putidum	7,9	2,1	**2,96**	8,1	1,9	**2,66**	8,1	1,9	**2,66**
Bac. mycoides	8,3	1,7	**2,38**	7,7	2,3	**3,22**	7,9	2,1	**2,94**

Um die chemischen Arbeiten nicht allzu sehr zu häufen, und da mir nur 2 kleine Thermostaten zur Verfügung stehen, die außerdem für anderweitige Untersuchungen dringend gebraucht wurden, sah ich in diesem Falle von Parallelversuchen ab, kontrollierte jedoch das bei 10° für Bacterium lipsiense erhaltene, überraschende Ergebnis durch eine mit dem gleichen Resultat endende Wiederholung. Daß sich bei 30° die Stellung von Bacterium Kirchneri und lipsiense umkehrt, entspricht dem oben erwähnten Verhalten bei Bruttemperatur, die auf die Entwickelung von Bacterium lipsiense nicht so außerordentlich retardierend wirkte als auf Bacterium Kirchneri. Die Rapidität der Zersetzung ist bei den beiden neuen Arten sehr groß; daß

die unter 1) mitgeteilten, nach 3 Wochen ermittelten Zahlen geringer sind als die in diesem Falle bei 20° erhaltenen, dürfte wohl durch Ammoniakverdunstung seine Erklärung finden. Ein mit beiden Arten zusammen beimpfter, 3 Wochen aufbewahrter Kolben enthielt nur noch 10,92 mg Stickstoff insgesamt, etwa 4 mg waren also in Verlust geraten.

Beachtenswert ist die auch bei nur 10° recht lebhafte Tätigkeit des Bacterium Kirchneri. In ihr dürfte wohl der Grund dafür zu erblicken sein, daß, wie im Abschnitt A mitgeteilt wurde, durch die dem Felde entnommene Erde in der Kalkstickstofflösung bereits dann ein bedeutender Effekt hervorgerufen wurde, als die Bodentemperatur nur erst eine Höhe von etwa 10° erreicht hatte. In dieser Richtung unterscheiden sich Kalkstickstoff- und Harnstoffzersetzung.

Während bei Bacterium vulgare var. Zopfii und Bacterium putidum der innerhalb 1 Woche hervorgerufene Effekt recht erheblich hinter dem nach 3 Wochen erzielten zurücksteht, ergibt sich für Bacillus mycoides, daß die oben beobachtete, allerdings nur geringe Fähigkeit auch bereits bei dieser kurzen Versuchsdauer klar hervortritt.

3) Die dritte Versuchsreihe sollte, wie oben angegeben, dazu dienen, den Einfluß vermehrten bezw. verminderten Luftzutritts festzustellen. Unter Berücksichtigung der durch die Versuchsreihen 1 und 2 erworbenen Erfahrungen wurde die Versuchsdauer verschieden lang bemessen, für Bacterium Kirchneri und lipsiense 1 und 2 Wochen, für Bacterium vulgare var. Zopfii, putidum und Bacillus mycoides aber 3 Wochen. Besonders in den in Erlenmeyer-Kolben ausgeführten Versuchen mußte mit einer Ammoniakverdunstung gerechnet werden, die wenigstens bei den beiden zuerst genannten Arten bei längerer Versuchsdauer zweifellos sehr störend auf die Resultate eingewirkt hätte. Das Verhältnis von Tiefe der Flüssigkeitsschicht zum Durchmesser der Flüssigkeitsoberfläche war in den Erlenmeyer-Kolben 15 : 85, in den Reagenzgläsern 15 : 3 (in den zu den anderen Versuchen benutzten Rundkolben 15 : 52). Pro 50 ccm ergaben sich folgende Daten:

3. Kalkstickstoffzersetzung bei vermehrtem bezw. vermindertem Luftzutritt.

Beimpft mit:	Versuchsdauer	In flacher Schicht			In hoher Schicht		
		z. Rücktitration ccm	Gebund. Säure ccm	N mg	z. Rücktitration ccm	Gebund. Säure ccm	N mg
Bact. Kirchneri	1 Woche	4,5	5,5	7,70	4,0	6,0	8,40
„ lipsiense (Stamm I)	1 „	4,0	6,0	8,40	3,7	6,3	8,82
Bact. Kirchneri	2 Wochen	4.0	6,0	8,40	4,1	5,9	8,26
„ lipsiense (Stamm I)	2 „	3,7	6,3	8,82	3,9	6,1	8,54
Bact. vulg. var. Zopfii	3 „	6,9	3,1	4,34	6,9	3,1	4,34
„ putidum	3 „	7,2	2,8	3,92	7,2	2,8	3,92
Bac. mycoides	3 „	8,0	2,0	2,80	7,7	2,3	3,22

Es hat sich demnach in allen Fällen durchaus kein durchgreifender Unterschied ergeben, der auf den Lufteinfluß zurückzuführen wäre. Hierdurch finden Befunde von Umsetzungsversuchen Bestätigung, welche ergaben, daß die Kalkstickstoffzersetzung durch die Bodenbearbeitung (oberflächliche Lockerung) durchaus nicht beeinflußt wurde, während

dies bei anderen Stickstoffumsetzungen in deutlichem Maße der Fall war [1]).

Die bei Bacterium Kirchneri, namentlich im Hinblick auf die zweite Versuchsreihe, deutlich hervortretende Verminderung der Intensität der Kalkstickstoffzersetzung veranlaßte mich, nachdem die ursprünglich auf Fleischagar und Fleischgelatine, wie oben mitgeteilt, nur ungern wachsenden Kalkstickstoffbakterien sich nach 5-monatlicher Kultur auf diesen Substraten den veränderten Lebensbedingungen akkommodiert hatten, sie abermals in Kalkstickstofflösung einzuimpfen. Es ergaben sich unter den gleichen Versuchsbedingungen wie in Versuch 1 folgende Zunahmen an Ammoniakstickstoff (in mg):

	frisch isoliert (Tabelle 1)	nach 5-monatlicher Kultur auf Fleischagar
Bacterium Kirchneri	6,44	3,62
„ lipsiense (Stamm I)	6,02	5,88
„ vulgare var. Zopfii	3,36	1,04
„ putidum	1,33	0,00

Dagegen erwies sich, wie zu erwarten war, der schon jahrelang auf Fleischagar gezüchtete Stamm von Bacillus megatherium als durchaus constant; dem oben (Tabelle 1) mitgeteilten Zuwachs von 3,61 mg entsprach bei der späteren Wiederholung ein solcher von 3,64 mg. Aehnlich stabil scheint das Spaltungsvermögen, soviel sich bis jetzt feststellen ließ, bei Bacterium lipsiense zu sein, während die drei anderen Arten in dieser Hinsicht verhältnismäßig rasch degenerierten.

4) Die vierte Versuchsreihe, bei der auch das verdunstende Ammoniak bestimmt und durch eine hinreichend lange Versuchsdauer darüber Auskunft erlangt werden sollte, ob die Umwandlung des in Form von Calciumcyanamid der Lösung zugesetzten Stickstoffs eine vollständige sei, wurde mit Hilfe der im Abschnitt A bereits beschriebenen Vorrichtung zum Auffangen des verdunstenden Ammoniaks durchgeführt. Aus diesem Grunde mußten hier wiederum (an Stelle der Kolben mit seitlichem Ansatz) 300 ccm-Erlenmeyer-Kolben Verwendung finden. Die vorher sorgfältig verpaßten Gummistopfen, Glasröhren und Verbindungsteile aus Gummi wurden in einem mit Wasser gefüllten Topf im Autoklaven bei 2 Atmosphären Druck sterilisiert; nachdem die Temperatur wieder auf 100° gesunken war, wurde der Apparat geöffnet und mittels einer, zuvor dem Topf zur Hälfte aufliegenden hinreichend großen Glasplatte rasch die Oeffnung des Topfes vollständig bedeckt. Derselbe blieb weiterhin in dem wieder verschlossenen Apparat bis zum vollständigen Erkalten stehen, und es wurden sodann mit möglichster Schnelligkeit die bis dahin auf den beimpften Versuchskolben befindlichen Wattepfropfen gegen die sterilen Gummistopfen ausgetauscht uud jedesmal sofort die Verbindung mit der zugehörigen Waschflasche und Vorlage hergestellt. Wie ich bereits oben mitteilte, ist es mir auf diese Weise gelungen, jede Fremdinfektion fernzuhalten. Da indessen derartige Versuche immerhin ziemlich prekär sind, so wählte ich die verhältnismäßig lange Versuchsdauer von 6 Wochen. Sehr wahrscheinlich war ja der Endpunkt der Umsetzungen schon früher erreicht; immerhin glaubte ich der gewählten Zeitdauer wegen der so gewährleisteten größeren Sicherheit in Bezug auf das zu erwartende Resultat den Vorzug geben zu müssen.

1) Einige Zahlenbeispiele teilte ich bereits früher, l. c. Bd. XII. p. 461, mit; ausführlichere Angaben folgen in der angekündigten Arbeit über die Stickstoffumsetzungen in der Ackererde.

Zu dieser Versuchsreihe wurden die drei kräftigsten der isolierten Kalkstickstoffzersetzer herangezogen und außerdem einige Kombinationen eingeschaltet. In den sterilen Kontrollkolben fanden sich 14,34 mg Gesamtstickstoff, so daß unter Abrechnung des (wie aus den bei der Besprechung der ersten Versuchsreihe erwähnten Ergebnissen hinsichtlich der Zersetzung des Asparagin-Bodenextrakts hervorgeht) jedenfalls sehr schwer angreifbaren Stickstoffs des Bodenextrakts (1 mg) 12,34 mg Kalkstickstoff- + 1 mg Asparagin-Stickstoff, insgesamt 13,34 mg Stickstoff in spaltungsfähiger Form den Bakterien zur Verfügung stand. In den beimpften Kolben wurde nach Ablauf der Versuchsdauer der noch vorhandene, durch Magnesia usta abspaltbare Stickstoff bestimmt und das verdunstete und in den mit 15 ccm $\frac{n}{20}$-Säure beschickten Vorlagen aufgefangene Quantum an Ammoniakstickstoff durch Rücktitration ermittelt.

4. **Kalkstickstoffzersetzung bei Berücksichtigung der Ammoniakverdunstung.**

Beimpft mit:	Parallele	In den Versuchskolben			In den Vorlagen			N insgesamt
		Rücktitration ccm	Gebund. Säure ccm	N mg	Rücktitration ccm	Gebund. Säure ccm	N mg	mg
Bact. Kirchneri	a.	6,8	3,2	4,48	9,8	5,2	7,28	**11,76**
	b.	8,9	1,1	1,54	7,3	7,7	10,78	**12,32**
„ lipsiense (Stamm I)	a.	7,7	2,3	3,22	10,1	4,9	6,86	**10,08**
	b.	8,3	1,7	2,38	8,2	6,8	9,52	**11,90**
„ Kirchneri + lipsiense	.	7,0	3,0	4,20	8,5	6,5	9,10	**13,30**
„ vulgare var. Zopfii	a.	9,1	0,9	1,26	10,1	4,9	6,86	**8,12**
	b.	7,6	2,4	3,36	12,8	2,2	3,08	**6,44**
„ vulg. var. Zopfii + putidum	.	8,8	1,2	1,68	11,2	3,8	5,32	**7,00**
„ vulg. var. Zopfii + Bac. mycoides	.	7,7	2,3	3,22	11,5	3,5	4,90	**8,12**

Trotz der relativ langen Versuchsdauer war demnach doch nur in dem gleichzeitig mit den beiden stärksten Kalkstickstoffzersetzern beimpften Kolben eine vollständige Hydratation des Calciumcyanamid- und Asparaginstickstoffs erreicht. Die Reinkulturen ließen dagegen durchweg noch einen Rest übrig. Ein Vergleich mit den in Tabelle 1 niedergelegten Ergebnissen der (zur selben Zeit in Gang gesetzten) 3-wöchigen Versuche zeigt indessen, daß innerhalb der zweiten Hälfte der 6-wöchigen Periode kaum eine irgendwie erhebliche Ammoniakbildung stattgefunden haben kann. Nicht uninteressant ist, daß in diesem Falle die stärkere bezw. schwächere Lüftung, wenn auch keinen starken, so doch einen merklichen Einfluß auf die Intensität der Umsetzung ausgeübt hat. In den Parallelversuchen ist die Gesamtsumme des umgesetzten Stickstoffs stets dort etwas höher, wo (infolge eines etwas rascheren Strömens der Luft) mehr Ammoniak verdunsten und in die Vorlagen übergehen konnte.

5) In der fünften Versuchsreihe wurde geprüft, ob die zur Kalkstickstoffzersetzung befähigten Bakterien auch den Harnstoff zu spalten vermögen. Denn wenn in der vorliegenden Arbeit wiederholt auf die Analogie hingewiesen wurde, die zwischen beiden Hydratationsprozessen

besteht, so handelt es sich meines Erachtens hierbei nicht um eine nur äußerliche Aehnlichkeit, sondern vielmehr um eine im Wesen der Umsetzungen selbst begründete Uebereinstimmung. Denkt man sich nämlich die, wie in der Einleitung erwähnt wurde, durch 3 Moleküle Wasser bewirkte Ueberführung des Calciumcyanamids in Ammoniak und Calciumkarbonat in die drei möglichen Teilprozesse zerlegt, so ergeben sich folgende Gleichungen:

$$\left.\begin{array}{l} 1)\ CaCN_2 + H_2O = CN \cdot NH_2 + CaO \\ 2)\ CN \cdot NH_2 + H_2O = CO(NH_2)_2 \\ 3)\ CO(NH_2)_2 + H_2O = 2\,NH_3 + CO_2 \end{array}\right\}$$

Theoretisch fungiert also der Harnstoff als Zwischenprodukt der Kalkstickstoffspaltung. In der Einleitung wurd bereits erwähnt, daß in der kalten, wässerigen, sterilen Lösung der erste Hydratationsprozeß für sich verläuft, und es ist ferner bekannt, daß das Cyanamid unter der Einwirkung verdünnter Säuren in Harnstoff übergeht.

Sämtliche Stämme, die sich in der ersten Versuchsreihe als zur Kalkstickstoffzersetzung befähigt erwiesen hatten, wurden auf die gewöhnlich zur Feststellung des Harnstoffzersetzungsvermögens benutzte 2-proz. Harnstoffbouillon geimpft. Durch Titration wurde nach 3,6 und 12 Tagen das in je 5 ccm vorhandene Alkali bestimmt, wobei sich ergab, daß unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen allein Bacterium Kirchneri zur Ammoniakbildung befähigt war; alle übrigen Arten dagegen wuchsen zwar ziemlich üppig in der benutzten Lösung, das Titer zeigte aber durchaus keine Aenderung. Es wurden stets genau wie in den sterilen Gläsern 0,9 ccm $\frac{n}{20}$-Schwefelsäure gebunden.

5. Harnstoffzersetzung in 2-proz. Harnstoffbouillon.

Beimpft mit:	Parallele	Je 5 ccm binden an Säure ccm:		
		nach 3 Tagen	nach 6 Tagen	nach 12 Tagen
Bacterium Kirchneri	a.	3,6	5,7	6,4
	b.	4,0	5,5	6,0

Auch der intensivste Kalkstickstoffzersetzer erwies sich also als verhältnismäßig recht wenig zur Harnstoffspaltung befähigt.

6) In der sechsten Versuchsreihe sollte sodann entschieden werden, ob auch dann, wenn vom Harnstoffstickstoff dem Bodenextrakt (+ 0,5 pro Mille K_2HPO_4) nur ungefähr ebensoviel hinzugefügt wurde, als bei den entsprechenden Versuchen in Form von Kalkstickstoff zur Verwendung gelangte, nur das Bacterium Kirchneri sich als zur Harnstoffspaltung befähigt erweisen würde, oder ob unter diesen infolge der geringeren Konzentration der Lösung günstigeren Bedingungen auch die anderen an der Kalkstickstoffzersetzung beteiligten Arten im stande wären, ebenfalls den Harnstoff anzugreifen. Nach Verlauf von 2 Wochen wurden in den mit je 50 ccm 0,08-proz. Harnstoffbodenextrakt (mit 18,13 mg Gesamtstickstoff, davon 17,13 mg in Form von Harnstoff) gefüllten Kolben folgende durch Magnesia usta abspaltbare Stickstoffmengen gefunden:

(Siehe Tabelle p. 397.)

Harnstoffzersetzung hat demnach unter den in diesem Falle innegehaltenen Versuchsbedingungen durchweg stattgefunden. Die ersten 4 Arten halten streng die Reihenfolge inne, welche für sie nach den Ergebnissen der ersten Versuchsreihe in Bezug auf die Kalkstickstoff-

6. Harnstoffzersetzung durch Kalkstickstoffbakterien in 0,08-proz. Harnstoff-Bodenextrakt.

	Parallele	z. Rücktitration ccm	Gebundene Säure ccm	N mg	Gegenüber steril Zunahme an N im Mittel mg
steril	a.	8,7	1,3	1,82	
	b.	8,6	1,4	1,96	
Bact. Kirchneri	a.	0,8	9,2	12,88	10,50
	b.	1,5	8,5	11,90	
„ lipsiense (Stamm I)	a.	4,0	6,0	8,40	7,07
	b.	3,2	6,8	9,52	
Bac. megatherium	a.	7,0	3,0	4,20	2,45
	b.	6,8	3,2	4,48	
Bact. vulgare var. Zopfii	a.	7,2	2,8	3,92	2,17
	b.	7,0	3,0	4,20	
Bac. mycoides (Oberholz)	a.	8,0	2,0	2,80	0,91
	b.	8,0	2,0	2,80	
Bact. putidum	a.	8,1	1,9	2,66	0,49
	b.	8,5	1,5	2,10	
„ fluorescens	a.	8,5	1,5	2,10	0,14
	b.	8,6	1,4	1,96	

zersetzung charakteristisch ist. Die deutlich hervortretende Priorität des Bacterium Kirchneri ist nach den Befunden der 5. Versuchsreihe sehr erklärlich. Daß auch der Wurzelbacillus noch deutlich Harnstoff gespalten hat, wurde bereits oben berührt. Dagegen ist die in Rede stehende Fähigkeit bei den Fluoreszenten nahezu verschwindend, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß diese Versuche gleichzeitig mit den oben erwähnten Kalkstickstoffversuchen mit den 5 Monate auf Fleischagar fortgezüchteten Kulturen angestellt wurden, in denen Bact. putidum ein durchaus negatives Verhalten zeigte.

Einiges allgemeinere Interesse dürfte diesen Resultaten insofern nicht abzusprechen sein, als ja bekanntlich die Angaben in der Literatur über die harnstoffzersetzende Tätigkeit verschiedener Bakterienstämme sehr schwanken, es aber nach den oben mitgeteilten Zahlen als sehr wahrscheinlich hingestellt werden darf, daß bei Verwendung hinreichend verdünnter Lösungen manche Art und mancher Stamm sich als fähig erweisen wird, den Harnstoff anzugreifen, dem gegenüber er sich bei höherer Konzentration der Lösung als völlig wirkungslos erwies.

Was speziell die Frage nach dem Verlauf der Kalkstickstoffzersetzung anlangt, so scheinen mir die Ergebnisse dieser Versuchsreihe allerdings sehr dafür zu sprechen, daß in der Tat die Hydratation des Calciumcyanamids den oben geschilderten Verlauf nimmt, der Harnstoff als Zwischenprodukt dieses Prozesses angesehen werden kann.

7) Um die vorstehend erörterten Erwägungen und Beobachtungen über die Wirkungsweise der Kalkstickstoffbakterien auch auf anderem Wege wenigstens einigermaßen zu begründen und sicherzustellen, impfte ich in der siebenten Versuchsreihe die drei kräftig harnstoffspaltenden Arten, Urobacillus Pasteuri Miquel, Urobacillus Leubei Beijck. und Planosarcina ureae Beijck. in die Kalkstickstofflösung. Denn in Anbetracht der Sachlage erschien es von Interesse, festzustellen, ob die bekannten Harnstoffzersetzer auch das in Bezug auf den Hydra-

tationsprozeß auf höherer Stufe stehende Cyanamid bezw. Calciumcyanamid anzugreifen vermögen. Natürlich prüfte ich die benutzten, von Král bezogenen und bereits längere Zeit auf Harnstoffagar fortgezüchteten Stämme vorerst auf ihr Harnstoffspaltungsvermögen, das ja, wie ich kürzlich[1]) zahlenmäßig nachgewiesen habe, mitunter sehr labil sein kann.

Urobacillus Pasteuri wurde in 10-proz., Urobacillus Leubei und Planosarcina ureae in 5-proz. Harnstoffbouillon kultiviert und in je 1 ccm nach 3 und 6 Tagen das vorhandene Ammonkarbonat durch Titration ermittelt. Es wurden folgende Mengen an $\frac{n}{20}$-Säure in Kubikcentimetern gebunden:

	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen
Urobacillus Pasteuri	17,0—17,5	29,0—29,4
„ Leubei	3,5— 3,7	6,1— 6,4
Planosarcina ureae	4,2— 4,7	6,0— 7,0

Alle drei Stämme zeigten also ungefähr die typische Wirksamkeit, wenn auch allerdings, namentlich bei Urobac. Leubei, eine Schwächung deutlich erkennbar ist. Uebrigens ist der in Rede stehende Stamm auch in anderen Beziehungen merklich degeneriert, ebenso wie der (ebenfalls aus der Králschen Sammlung stammende) Urobacillus Miqueli Beijck., der zwar noch kümmerlich auf Harnstoffagar (nicht mehr auf Fleischagar) und 2-proz. Harnstoffbouillon wächst, aber durchaus keinen Harnstoff und ebenso keinen Kalkstickstoff zersetzt[2]).

Die in der mit den oben genannten drei Harnstoffbakterien beimpften Kalkstickstofflösung nach 2-wöchiger Versuchsdauer aufgefundenen Mengen an durch Magnesia abspaltbarem Stickstoff waren (pro 50 ccm) die folgenden:

7. Kalkstickstoffzersetzung durch Harnstoffbakterien.

Beimpft mit	Parallele	Zur Rücktitr. ccm	Gebundene Säure ccm	N mg	Gegenüber steril Zunahme an N im Mittel mg
Urobacillus Pasteuri	a.	7,6	2,4	3,36	0,91
	b.	7,7	2,3	3,22	
Urobacillus Leubei	a.	5,9	4,1	5,74	3,71
	b.	5,4	4,6	6,44	
Planosarcina ureae	a.	6,3	3,7	5,18	2,72
	b.	6,4	3,6	5,04	

Die schwächeren Harnstoffbakterien griffen demnach in deutlich wahrnehmbarem Grade auch auf das Cyanamid zurück, während Urobacillus Pasteuri, der Harnstoffzersetzer par excellence, sich gegen diese Substanz fast ebenso ablehnend verhielt wie gegen alle anderen, hinsichtlich deren sein Verhalten bisher geprüft worden ist.

8) Die achte Versuchsreihe sollte schließlich dazu dienen, das in der vorliegenden Arbeit entworfene Bild von der Tätigkeit der Kalkstickstoffbakterien insofern einigermaßen zu vervollständigen, als ich

1) l. c. Bd. XIV. p. 7.

2) Wie Herr Prof. Beijerinck auf eine entsprechende briefliche Anfrage mitzuteilen die Güte hatte, sind auch bei ihm Urobac. Leubei und Miqueli merklich degeneriert.

sowohl die sämtlichen in der ersten Versuchsreihe geprüften Arten, wie auch einige andere Stämme auf 1-proz. Peptonlösung impfte, nach 5 und 10 Tagen den in je 10 ccm vorhandenen, durch Magnesia usta abspaltbaren Stickstoff und somit das Zersetzungsvermögen, welches den neuen Arten in dieser Richtung zukommt, bestimmte. Diese Versuchsreihe schien mir außerdem deshalb am Platze, weil, wie im Abschnitt B mitgeteilt wurde, auch bei der Kultur der Kalkstickstoffbakterien auf Bodenextraktgelatine Bildung von Ammoniak in deutlich wahrnehmbarem Umfange beobachtet wurde, das nur aus der Gelatine gebildet sein konnte, da der benutzte Bodenextrakt ja nur 0,02 ‰ Gesamtstickstoff enthielt.

Die zu diesen Versuchen verwandte Peptonlösung enthielt in sterilem Zustande pro 10 ccm 12,60 mg Gesamtstickstoff und 0,42 mg durch Magnesia usta abspaltbaren Stickstoff. Die für die beimpften Kolben erlangten Befunde sind (der Größe nach geordnet) die folgenden:

8. Peptonzersetzung durch Kalkstickstoffbakterien.

Beimpft mit	Parallele	Nach 5 Tagen				Nach 10 Tagen			
		z. Rücktitration ccm	Gebund. Säure ccm	N mg	N im Mittel mg	z. Rücktitration ccm	Gebund. Säure ccm	N mg	N im Mittel mg
Bacterium putidum (aus Stallmist)	a.	8,4	1,6	2,24	2,24	7,7	2,3	3,21	3,08
	b.	8,4	1,6	2,24		7,9	2,1	2,94	
Bacterium putidum (Oberholz)	a.	8,5	1,5	2,10	1,96	7,8	2,2	3,08	3,01
	b.	8,7	1,3	1,82		7,9	2,1	2,94	
Bacterium fluorescens (a. Stallmist)	a.	8,5	1,5	2,10	2,10	8,1	1,9	2,66	2,80
	b.	8,5	1,5	2,10		7,9	2,1	2,94	
Bacterium fluorescens (Oberholz)	a.	8,7	1,3	1,82	1,96	8,2	1,8	2,52	2,66
	b.	8,5	1,5	2,10		8,0	2,0	2,80	
Bacillus subtilis (Halle)	a.	8,8	1,2	1,68	1,68	8,2	1,8	2,52	2,38
	b.	8,8	1,2	1,68		8,4	1,6	2,24	
Bacillus mycoides (Oberholz)	a.	8,9	1,1	1,54	1,54	8,5	1,5	2,10	1,96
	b.	8,9	1,1	1,54		8,7	1,3	1,82	
Bacillus mycoides (Halle)	a.	8,9	1,1	1,54	1,54	8,7	1,3	1,82	1,75
	b.	8,9	1,1	1,54		8,8	1,2	1,68	
Bacillus Ellenbachensis (Král)	a.	9,2	0,8	1,12	1,19	8,9	1,1	1,54	1,61
	b.	9,1	0,9	1,26		8,8	1,2	1,68	
Bacterium vulgare var. Zopfii	a.	9,2	0,8	1,12	1,12	8,9	1,1	1,54	1,40
	b.	9,2	0,8	1,12		9,1	0,9	1,26	
Bacterium Kirchneri	a.	9,5	0,5	0,70	0,70	9,0	1,0	1,40	1,33
	b.	9,5	0,5	0,70		9,1	0,9	1,26	
Bacterium lipsiense (Stamm I)	a.	9,2	0,8	1,12	1,05	9,1	0,9	1,26	1,33
	b.	9,3	0,7	0,98		9,0	1,0	1,40	
Bacterium lipsiense (Stamm II)	a.	9,3	0,7	0,98	0,98	9,0	1,0	1,40	1,26
	b.	9,3	0,7	0,98		9,2	0,8	1,12	
Bacterium vulgare (Oberholz)	a,	9,2	0,8	1,12	1,19	9,1	0,9	1,26	1,26
	b.	9,1	0,9	1,26		9,1	0,9	1,26	
Bacillus megatherium (Halle)	a.	9,4	0,6	0,84	0,77	9,4	0,6	0,84	0,91
	b.	9,5	0,5	0,70		9,3	0,7	0,98	

Die Fähigkeit, aus dem verwendeten Pepton Ammoniak frei zu machen, ist demnach bei den relativ kräftigen Kalkstickstoffzersetzern nicht gerade groß, aber doch immerhin deutlich. Beiläufig sei darauf hingewiesen, daß Bacillus mycoides und megatherium, die man nach Marchals[1]) und Stoklasas[2]) Befunden an erster bezw. zweiter Stelle zu erwarten geneigt sein könnte, im vorliegenden Falle nur einen ziemlich untergeordneten Rang einnehmen, worauf an anderer Stelle zurückzukommen sein wird.

Eingehenderen Untersuchungen muß es vorbehalten bleiben, manche in dieser Arbeit nur flüchtig gestreifte Frage weiter zu verfolgen und andere vorläufig unerörtert gebliebene Punkte (wie Wirkung anders zusammengesetzter Lösungen, sowie anderer Arten und Stämme von Bakterien, Maximalleistungen der verschiedenen Species etc.) in ihren Bereich einzubeziehen. In der vorliegenden Abhandlung kam es mir zunächst darauf an, zu zeigen, daß es mit Hilfe der in früheren Arbeiten eingehend geprüften und empfohlenen Methode der Umsetzungsversuche in Lösungen und bei Verwertung derselben als „Anhäufungsversuche" in der Tat möglich wird, mit verhältnismäßig geringer Mühe einen klaren Einblick in den Verlauf der Umsetzungen im Boden zu erlangen und zwar auch dann, wenn es sich um ein noch ganz unerforschtes Gebiet handelt.

Leipzig, Februar 1905.

Die physiologischen Wirkungen des Ozons.

Von Prof. Dr. **Wilhelm Sigmund**, Prag.

Einleitung.

Das Ozon bildet seit seiner Entdeckung durch Schönbein im Jahre 1840 den Gegenstand zahlreicher Untersuchungen sowohl in chemischer als auch in physiologischer Hinsicht; trotzdem sind unsere Kenntnisse über das Ozon noch recht lückenhafte. Was speziell die Untersuchungen über die physiologischen Wirkungen des Ozons betrifft, und diese sollen hier in erster Linie berücksichtigt werden, so umfassen dieselben bisher trotz ihrer großen Zahl ein relativ engbegrenztes Gebiet; die älteren Untersuchungen beziehen sich nämlich fast ausschließlich auf Versuche an Menschen und warmblütigen Tieren, insbesondere Säugetieren, und die neueren auf pathogene Bakterien. Ueber die Wirkungen des Ozons auf die übrigen Vertreter des Tier- und Pflanzenreiches, auf Enzyme, Gärungsvorgänge u. a. liegen auffallend wenig Arbeiten vor.

Ich habe bereits im Jahre 1896 Vorversuche über die Einwirkung des Ozons auf die Keimung ausgeführt[3]), da ich aber keine Gelegenheit hatte, größere Ozonmengen auf elektrischem Wege darzustellen, habe ich meine damals begonnenen Versuche wieder eingestellt. Erst jetzt ist es

1) Marchal, Centralbl. f. Bakt. Abt. II, Bd. I. 1895. p. 753.
2) Stoklasa, Ebenda. Bd. VI. 1900. p. 532.
3) XXIII. Jahresbericht der II. deutschen Staats-Oberrealschule in Prag. 1896.

mir möglich geworden, die Versuche mit Ozon im agrikulturchemischen Laboratorium der k. technischen Hochschule in München fortsetzen zu können.

Herrn Prof. Dr. Ritter von Soxhlet, der durch sein freundliches Entgegenkommen und durch seine tatkräftige Unterstützung mir die Ausführung dieser Arbeit ermöglichte, drücke ich auch an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank aus.

Die Gründe, die mich zur Wiederaufnahme der Versuche mit Ozon bewogen haben, liegen teils in dem oben angeführten Umstande, daß die bisher vorliegenden Arbeiten über die physiologischen Wirkungen des Ozons ein verhältnismäßig kleines Gebiet umfassen, teils darin, daß sie insbesondere zwei wesentliche Mängel aufweisen.

Erstens wurden bei den bisherigen Versuchen fast gar keine quantitativen Ozonbestimmungen gemacht — eine Ausnahme bilden nur die neueren Arbeiten über die Wirkung des Ozons auf Bakterien zum Zwecke der Wassersterilisation — so daß über die Mengen des physiologisch-wirksamen Ozons keine oder doch wenig zuverlässige Angaben vorliegen. Man begnügte sich meist, die Gegenwart des Ozons durch den Geruch oder durch Jodkaliumstärkepapier nachzuweisen. In einzelnen Fällen wurde auch Schönbeins Ozonometer benutzt, doch schließt diese Methode so viele Fehlerquellen ein, daß ihren Ergebnissen kaum ein größerer Wert beigemessen werden kann als der eines qualitativen Nachweises.

Aber auch dort, wo die noch heute gebräuchlichen quantitativen Ozonbestimmungsmethoden ausgeführt wurden, dürften, namentlich bei älteren Arbeiten, die ermittelten Ozonmengen nicht immer den Tatsachen entsprechen, sondern meist zu hohe Werte angeben, denn die in den letzten Jahren vorgenommene Prüfung der quatitativen Ozonbestimmungsmethoden, insbesondere der gebräuchlichsten und besten mittelst Jodkalium, auf ihre Genauigkeit hat ergeben, daß sie nur unter ganz bestimmten Bedingungen, die früher nicht immer eingehalten wurden, genaue Resultate liefert (vgl. unten).

Ein zweiter, nicht minder wichtiger Umstand, der bisher überhaupt keine Berücksichtigung gefunden hat, betrifft die Reinheit des zur physiologischen Wirkung gelangten Ozons. Unsere gebräuchlichste Darstellungsweise des Ozons ist bekanntlich die der stillen Entladung. Hierbei bilden sich aber neben Ozon immer auch noch Oxyde des Stickstoffs; wenn dieselben auch nur in minimaler Menge entstehen, so können sie doch die physiologische Wirkung des Ozons mehr oder weniger beeinflussen.

Auch auf chemischem Wege ist es schwer, ein vollkommen einwandfreies Ozon auf die Versuchsobjekte gelangen zu lassen. Die Methode, bei welcher man konzentrierte Schwefelsäure auf Superoxyde, Permanganate, Persulfate, Perkarbonate u. a. einwirken läßt, liefert nur dann reines Ozon, wenn die benutzten Chemikalien vollständig rein sind, aber auch dann besteht noch die Gefahr der Verunreinigung durch Schwefelsäuredämpfe. Waschen mit Kali- oder Natronlauge würde das Ozon ganz oder doch zum großen Teil zerstören. Die Methode, mit Hilfe von Phosphor Ozon darzustellen, ist für physiologische Zwecke ganz ungeeignet, wurde aber trotzdem in einzelnen Fällen angewandt. Im allgemeinen wurde jedoch die chemische Ozondarstellung bei physiologischen Versuchen nur selten benutzt, schon aus dem Grunde, weil sie überhaupt

und zu physiologischen Versuchen insbesondere eine wenig geeignete Ozonquelle bildet.

Außer den angeführten Momenten kommt endlich noch in Betracht, daß die Versuchsergebnisse vielfach divergieren, in manchen Fällen einander geradezu widersprechen.

Die bisherigen Versuche über die physiologischen Wirkungen des Ozons lassen demnach sowohl in bezug auf ihren Umfang, als auch bezüglich der angewandten Methoden, endlich auch in betreff ihrer Resultate vieles zu wünschen übrig; es erschien mir daher, wie schon erwähnt, nicht unwichtig, die Versuche mit Ozon wieder aufzunehmen.

Bei der Beurteilung dieser Versuche ist allerdings nicht zu vergessen, daß wir es beim Ozon mit einem Körper zu tun haben, der äußerst empfindlich ist gegen fast alle organischen Substanzen, die er auf Kosten seines eigenen Bestandes mehr oder weniger energisch angreift, so daß es in vielen Fällen unmöglich ist, festzustellen, wie viel von der zu Versuchszwecken gelangenden Ozonmenge tatsächlich auf das Versuchsobjekt selbst eingewirkt hat, und wie viel von den die Versuchsobjekte begleitenden fremden Substanzen, die zu beseitigen in gewissen Fällen unmöglich ist, verbraucht wurde. Dazu kommt noch der Mangel einer exakten, ausschließlich dem Ozon zukommenden qualitativen und insbesondere quantitativen Bestimmungsmethode. Bei den vielen Schwierigkeiten, mit denen man bei den Versuchen mit Ozon zu kämpfen hat, erscheint es mir derzeit überhaupt fast unmöglich, alle Fehlerquellen vollständig auszuschließen; ich habe mich bemüht, dieselben auf ein Minimum zu reduzieren.

Allgemeines über die Ausführung der Versuche.

Bei der Ausführung meiner Versuche mit Ozon habe ich mich hauptsächlich von folgenden Gesichtspunkten leiten lassen: Das zur physiologischen Wirkung gelangende Ozon frei von allen jenen Beimengungen, die selbst physiologische Prozesse zu beeinflussen vermögen, auf die Versuchsobjekte einwirken zu lassen; in dem Versuchsraum außer den Versuchsobjekten alles auszuschließen, was vom Ozon angegriffen werden könnte; das physiologisch wirksame Ozon quantitativ zu bestimmen. Dabei habe ich natürlich auch die bei allen wissenschaftlichen Untersuchungen geltenden Grundsätze, insbesondere die jedesmalige Ausführung von Kontrollversuchen unter peinlichster Einhaltung gleicher Versuchsbedingungen und die wiederholte Ausführung der Versuche nicht außer acht gelassen.

Was die Herstellung eines reinen, von fremden Beimengungen freien Ozons anbelangt, so waren bezüglich der Entfernung der letzteren bei der Darstellung des Ozons aus dem Luftsauerstoff alle diejenigen Bestandteile der Luft ausgenommen, die sich entweder völlig indifferent verhalten, wie der Stickstoff, oder die nur in größeren Konzentrationen einen Einfluß auszuüben vermögen, in der Verdünnung aber, wie sie in der Luft vorkommen, wirkungslos sind, wie der natürliche Kohlensäuregehalt der Luft, der für gewisse Versuche, z. B. mit grünen Pflanzen, sogar erhalten werden mußte; und endlich die Luftfeuchtigkeit, die aus doppelten Gründen beibehalten werden mußte: erstens, weil ihre Entfernung eine für Pflanzen und Tiere ganz unnatürliche Lebensbedingung geschaffen hätte, und zweitens, weil das Ozon nur bei Gegenwart von Wasser wirksam ist. Natürlich habe ich die Luft auch vor dem Ozoni-

sieren nicht getrocknet, wie dies bei früheren Versuchen einer größeren Ozonausbeute wegen vielfach geschehen ist, insbesondere bei Tierversuchen, wobei oft Erscheinungen auftraten, die nicht dem Ozon, sondern der Trockenheit der Luft zuzuschreiben waren.

Wurde das Ozon aus reinem Sauerstoff dargestellt, so mußte darauf Rücksicht genommen werden, daß der reine Sauerstoff sich nicht mehr so verhält, wie der stark verdünnte Sauerstoff der Luft; es wurden daher, um die reine Ozonwirkung festzustellen, gleichzeitig Parallelversuche mit ozonisiertem und mit reinem Sauerstoff ausgeführt, und um auch die Wirkung des reinen Sauerstoffs zu ermitteln, wurde noch ein dritter Kontrollversuch mit dem unbehandelten Versuchsobjekt angestellt.

Diejenigen Bestandteile der Luft, um deren Entfernung es sich hauptsächlich handelte, waren die Oxyde des Stickstoffs; obzwar ich ihre Gegenwart in der von mir mit Hilfe eines Baboschen oder Siemensschen Ozonisators bei Anwendung von Stromquellen von 4—12 Volt und 1,5—3 Ampère ozonisierten Luft mit der uns derzeit zur Verfügung stehenden Methoden nicht nachweisen konnte, so schien es mir dennoch wichtig, für ihre Entfernung ein geeignetes Absorptionsmittel ausfindig zu machen. Abgesehen davon, daß wir gegenwärtig nur über wenige Methoden von nicht näher bekannter Empfindlichkeit verfügen, um die Oxyde des Stickstoffs bei gleichzeitiger Gegenwart von Ozon nachzuweisen, ist zu beachten, daß die Pflanzen gegen schädliche Stoffe eine ganz außergewöhnliche Empfindlichkeit besitzen, die unsere besten analytischen Methoden bei weitem übertrifft. Nägeli[1]), der zuerst diese Erscheinung beobachtete, fand, daß Spirogyren noch auf ein Teil Kupfer in 1000 Millionen Teilen Wasser reagieren. Coupin[2]) hat diese Erscheinung auch bei höheren Pflanzen nachgewiesen; am schädlichsten erwies sich Kupfer, indem Kupfersulfat noch in einer Verdünnung von $\frac{1}{100000000}$ eine schädigende Wirkung äußerte. Auch die Giftwirkung des destillierten Wassers auf die Pflanzen ist auf eine Spur von Kupfer zurückzuführen[3]). Aber nicht nur gegen im Wasser gelöste feste Körper, sondern auch gegen Gase sind die Pflanzen sehr empfindlich; bekannt ist die schädliche Wirkung der oft sehr verdünnten Rauchgase auf die Vegetation; nach den Versuchen von v. Schroeder und Schmitz-Dumont[4]) reagieren Fichten auf schweflige Säure noch bei einer Verdünnung von $\frac{1}{1000000}$. Sehr empfindlich sind die Pflanzen auch gegen Leuchtgas, wie Molisch[5]) zuerst gezeigt hat; es dürfte

1) v. Nägeli, C., Ueber oligodynamische Erscheinungen in lebenden Zellen, herausgegeben von S. Schwendener und C. Cramer. Basel 1893. (Denkschrift d. schweiz. naturforsch. Ges. Bd. XXXIII, 1; Ref. Bot. Zeit. Jahrg. LI. 1893. Abt. II. No. 22. p. 337.)

2) Coupin, H., Ueber die Empfindlichkeit der höheren Pflanzen gegen sehr schwache Dosen giftiger Substanzen. (Comptes rendus de l'Acad. des sciences. T. CXXXII. 1901. p. 645; Ref. Centralblatt f. Agrikulturchemie. Jahrg. XXXI. 1902. p. 40.)

3) Loew, O., Bemerkung über die Giftwirkung des destillierten Wassers. (Landwirtsch. Jahrbücher. Bd. XX. 1891. p. 235.) — Dehérain und Demoussy, Ueber die Keimung im destillierten Wasser. (Comptes rendus. T. CXXXII. 1901. p. 523; Ref. Centralbl. f. Agrikulturchemie. Jahrg. XXX. Heft 11.)

4) Tharand. Forstl. Jahrb. 1896, 46, 1; durch Haselhoff und Lindau, Die Beschädigung der Vegetation durch Rauch. Leipzig 1903. p. 64.

5) Molisch, H., Ueber die Ablenkung der Wurzeln von ihrer normalen Wachstumsrichtung durch Gase (Aërotropismus). (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Bd. XC. Abt. I. 1884. p. 183.)

auch nach Richter[1]) und Singer[2]) die Ursache der schädlichen Wirkung der Laboratoriumsluft auf das Pflanzenwachstum sein.

Zum Nachweis der Oxyde des Stickstoffs neben Ozon habe ich mich der von Arnold und Mentzel[3]) empfohlenen Reagentien Benzidin und insbesondere Tetramethyl-p-p'-diamido-diphenylmethan (von den Autoren Tetrabase genannt) bedient. Von dem ersteren Reagens benützt man gesättigte Lösungen in Aethylalkohol, vom letzteren in Methylalkohol und tränkt damit Filtrierpapier. Das aus der Luft und aus reinem Sauerstoff dargestellte Ozon gab sowohl mit Benzidin als auch mit Tetrabase nur die für Ozon charakteristischen Färbungen, nämlich braun bezw. rot-violett.

Wenn auch die Prüfung des Ozons auf die Oxyde des Stickstoffs mit den genannten Reagentien ein negatives Resultat ergab, so war damit keineswegs bewiesen, daß das Ozon auch tatsächlich frei war von allen Spuren obiger Stickstoffverbindungen, und ich habe daher aus den oben angeführten Gründen nach einem passenden Absorptionsmittel gesucht. Ein solches war nicht leicht zu finden, denn es sollte nicht nur die Oxyde des Stickstoffs vollständig zurück behalten und das Ozon möglichst ungehindert passieren lassen, sondern es sollte auch den natürlichen Feuchtigkeits- und Kohlensäuregehalt der Luft unverändert lassen, und mußte endlich so beschaffen sein, daß ein Eindringen desselben in den Versuchsraum ausgeschlossen erschien, es durfte also insbesondere nicht giftig und flüchtig sein.

Zunächst suchte ich in der Literatur nach Angaben über die Trennung des Ozons von den Oxyden des Stickstoffs und fand diesbezüglich nur ein Mittel vorgeschlagen, nämlich konzentrierte Schwefelsäure[4]), doch konnte ich dieses Mittel nicht benutzen.

Nach verschiedenen Versuchen fand ich im Natriumbikarbonat ein für meine Zwecke geeignetes Absorptionsmittel; ich habe es in gekörntem, mäßig angefeuchtetem Zustande angewandt. Daß es die Oxyde des Stickstoffs vollständig zurückbehält, davon überzeugte ich mich mit Hilfe von Stickstoffperoxyd, das ich aus etwas Kupfer und Salpetersäure in einer geräumigen Flasche darstellte. Diese war mit einem doppelt durchbohrten Stöpsel, welcher mit einer kürzeren und einer bis zum Boden reichenden Röhre versehen war, verschlossen. Sobald der Inhalt der Flasche leicht gebräunt erschien, habe ich das Stickstoffperoxyd mit Hilfe eines Kautschukhandgebläses gegen Papierstreifen getrieben, die mit einer alkoholischen Lösung von Benzidin und einer Lösung der oben genannten Tetrabase in Methylalkohol getränkt waren; die beiden Reagenspapiere reagierten sofort auf das ausströmende Gas, indem das Benzidinpapier blau, das der Tetrabase gelb gefärbt wurde. Schaltete ich dagegen die mit den Natriumbikarbonatstückchen gefüllte Röhre ein, so blieben die genannten Reagenzpapiere, selbst bei längerem Durchblasen des Stickstoffperoxyds, völlig unverändert.

---

1) Richter, O., Pflanzenwachstum und Laboratoriumsluft. (Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 1903. p. 180.)

2) Singer, M., Ueber den Einfluß der Laboratoriumsluft auf das Wachstum der Kartoffelsprosse. (Ebenda. p. 175.)

3) Arnold, C. und Mentzel, C., Alte und neue Reaktionen des Ozons. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Jahrg. XXXV. 1902. p. 1324. — Dieselben, Verbesserte Reaktionen und Darstellungsmethoden des Ozons; Ursol D als Reagens auf Ozon. (Ebenda. p. 2902.)

4) Vgl. Brunck, O., Die quantitative Bestimmung des Ozons. (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. XXXIII. 1900. p. 1832.)

Das Ozon wird von dem Absorptionsmittel nur in geringem Grade zerstört, wie die quantitativen Ozonbestimmungen ohne und mit Einschaltung von Natriumbikarbonat bewiesen. Die Größe der Differenz richtete sich nach der Menge und dem Feuchtigkeitsgehalt des eingeschalteten Natriumbikarbonats; da jedoch zur Absorption, wie die Versuche zeigten, geringe Mengen und mäßig befeuchtet genügten, so war der Verlust an Ozon unbedeutend. Für die Versuche selbst schloß dieser Umstand keine Fehlerquelle ein, da bei der quantitativen Bestimmung des physiologisch wirksamen Ozons dieselben Mengen von Natriumbikarbonat mit demselben Feuchtigkeitsgrad eingeschaltet waren, wie sie bei den Versuchen benutzt wurden, so daß tatsächlich nur das zur physiologischen Aktion gelangende Ozon bestimmt wurde.

Das obige Absorptionsmittel entsprach auch den anderen Anforderungen, nämlich den Feuchtigkeits- und Kohlensäuregehalt der Luft nicht zu verändern und das Ozon selbst nicht zu verunreinigen; letzteres wurde auch noch dadurch verhindert, daß die Natriumbikarbonatstückchen von zwei Schichten von Glaswolle abgeschlossen wurden.

Was den neben der atmosphärischen Luft zur Ozonisation benutzten Sauerstoff anbelangt, so wurde hierzu eine Sauerstoffbombe verwendet. Zur Prüfung des Sauerstoffes auf Chlor, eventuell andere Jodkalium zersetzende Verunreinigungen, wurde derselbe eine Stunde lang durch Jodkaliumstärkelösung geleitet, sie blieb unverändert; der benutzte Sauerstoff war bis auf geringe Mengen von Stickstoff rein.

Die luftdichte Vereinigung der einzelnen Apparate wurde in der Weise bewirkt, daß zur Verbindung zweierlei Glasröhren von bestimmtem Durchmesser benutzt wurden, der äußere Durchmesser der kleineren Röhren war nämlich nur um eine Spur kleiner, als der innere Durchmesser der größeren Röhren; sollten nun die kleineren Röhren verbunden werden, so wurden die möglichst eben geschnittenen Enden derselben bis zur Berührung gebracht und darüber ein Stückchen der weiteren Röhre geschoben, nachdem vorher die Röhren mit einer dünnen, aber zum Ausfüllen der Zwischenräume hinreichenden Schichte von Paraffin überzogen waren. Gewöhnlich konnte schon auf diese Weise ein luftdichter Verschluß hergestellt werden, doch wurden meist noch die beiden Ränder des weiteren Röhrchens mit etwas Siegellack überzogen. Außerdem wurde der von Engler und Nasse[1]) vorgeschlagene Quecksilberverschluß benutzt, wobei aber, um eine eventuelle Verunreinigung des Ozons mit den giftigen Quecksilberdämpfen hintanzuhalten, das Quecksilber mit etwas reinem, schweren Paraffinöl überschichtet wurde. Da Paraffin und Siegellack von Ozon wenig oder gar nicht angegriffen werden[2]), so war der Verlust an Ozon ein minimaler, und da ferner bei der quantitativen Bestimmung des Ozons dieselben Vereinigungsarten benutzt wurden, auch für die zur Wirkung gelangte Ozonmenge ohne Belang.

Die Luft in dem Zimmer, in welchem die Versuche ausgeführt wurden, war frei von Säuredämpfen und anderen schädlichen Bestandteilen, Leuchtgas wurde darin weder zu Leucht- noch zu Heizzwecken benutzt; immerhin mußte, insbesondere im Interesse der Genauigkeit

1) Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. CLIV. p. 215. Engler, C., Historisch-kritische Studien über das Ozon. (Leopoldina, amtliches Organ der Kais. Leopoldinisch-Carolin. Deutsch. Akad. der Naturforscher. Heft XV. Halle 1879. p. 32. [Separatabdruck.]

2) Fehling, Handwörterbuch der Chemie, Artikel Ozon. Engler, Histor.-krit. Studien über das Ozon. p. 37. [Separatabdruck.]

der Kontrollversuche, damit gerechnet werden, daß die Luft in der Nähe des tätigen Induktors etwas ozonhaltig sein könnte, es wurden daher die unbehandelten Kontrollobjekte außerhalb dieser Sphäre gebracht. Die Luft zur Ozonisation als auch zur Behandlung der Kontrollobjekte wurde in der Regel direkt aus dem Freien geleitet.

Die Versuchsobjekte befanden sich je nach ihrer Beschaffenheit und Größe unter Glocken, in Cylindern, Kolben von verschiedener, bei Paralellversuchen aber von je gleicher Größe; in Wasser gelöste oder darin suspendierte Versuchsobjekte wurden zum Zwecke der Durchleitung von ozonisierter als auch gewöhnlicher Luft in Drechselsche Waschflaschen gebracht. Die Geschwindigkeit des Luft- und Sauerstoffstromes wurde mit Hilfe einer Gasuhr gemessen.

Was die quantitative Bestimmung des Ozons anbelangt, so habe ich die Methode mittelst Jodkaliumlösung benutzt, welche derzeit als die beste angesehen werden kann. Dabei ist es aber nicht gleichgültig, wie Ladenburg und Quasig[1]) gezeigt haben, ob man das Ozon in eine neutrale oder saure Lösung leitet. Früher wurde nämlich das Ozon meist in eine vorher angesäuerte Jodkaliumlösung geleitet, nur in einigen Fällen wurde es in die neutrale Jodkaliumlösung geleitet und erst vor der Titrierung die Säure zugesetzt.

Ladenburg und Quasig haben unter Zuhilfenahme einer Methode, welche es gestattete, das Ozon durch direkte Wägung zu bestimmen, festgestellt, daß man nur dann genaue Resultate erhält, wenn man das Ozon in eine neutrale Jodkaliumlösung leitet, und erst vor dem Titrieren des Jods ansäuert; leitet man das Ozon dagegen in eine angesäuerte Jodkaliumlösung, so ergeben sich stets um etwa 50 Proz. zu hohe Werte.

Zur Titration des ausgeschiedenen Jods wurde $\frac{N}{100}$-Natriumthiosulfatlösung benutzt; die Titerstellung derselben erfolgte mit Kaliumbichromat und zwar erst nach etwa 14-tägigem Stehenlassen der Lösung, weil bekanntlich die Kohlensäure im destillierten Wasser das Natriumthiosulfat zersetzt; läßt man aber die Lösung 8 bis 14 Tage stehen, so wird die ganze im destillierten Wasser vorhandene Kohlensäure verbraucht und die Natriumthiosulfatlösung hält sich längere Zeit unverändert[2]), doch wurde der Titer von Zeit zu Zeit kontrolliert.

I. Einwirkung des Ozons auf Enzyme.

Ueber die Einwirkung des Ozons auf Enzyme liegt in der Literatur äußerst wenig vor; ich fand nur einige ältere Angaben von Gorup-Besanez[3]) und von Falk[4]) über die Einwirkung des Ozons auf Emulsin und von Fischer[5]) auf Pepsin; ihre Beobachtungen stimmen darin

1) Ladenburg, A. und Quasig, R., Qantitative Bestimmung des Ozons. (Ber. d. Deutch. chem. Ges. 34. Jahrg. 1901. p. 1184.) Vgl. auch Brunck, O., Zur technischen Ozonbestimmung. (Zeitschr. f. angewandte Chem. 1903. p. 894.)

2) Treadwell, Kurzes Lehrbuch der analytischen Chemie. Bd. II. Quantitative Analyse. 2. Aufl. 1903. p. 447.

3) v. Gorup-Besanez, E., Ueber die Einwirkung des Ozons auf organische Verbindungen (Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. CX. 1859. p. 107.)

4) Falk, Experimentelles zur Frage der Kanalisation und Berieselung. II. (Vierteljahrsschrift f. gerichtl. Medizin u. öff. Sanitätswesen, herausg. v. Eulenberg. Bd. XXIX. 1878. p. 286.)

5) Fischer, Ernst, Ueber die Einwirkung des Ozons auf die Gärung und Fäulnis. Dissert. Bonn 1883.

überein, daß die beiden Enzyme durch Ozon in ihrer Wirksamkeit herabgesetzt werden. Ueber die zur Einwirkung gelangten Ozonmengen ist nichts angegeben.

Meine Versuche ergaben, daß außer den genannten beiden Enzymen auch alle anderen von mir untersuchten in ihrer Wirksamkeit geschädigt wurden, der Schädigungsgrad aber war verschieden, nicht nur bei verschiedenen Enzymen, sondern auch bei ein und demselben. Der Grund hierfür liegt darin, daß die Intensität der Ozonwirkung auf die Enzyme nicht nur von der Menge des Ozons, von der Geschwindigkeit des ozonisierten Luft- bezw. Sauerstoffstromes und von der Einwirkungsdauer desselben abhängig ist, sondern auch, wie die Versuche gezeigt haben, beeinflußt wird von der Reinheit des Enzyms, ferner von der Konzentration und der Menge der zur Ozonisation gelangten Enzymlösung. Diese Ersaheinung ist auch leicht erklärlich; bekanntlich ist es bis jetzt nicht gelungen, die Enzyme vollständig rein darzustellen; sie enthalten alle mehr oder weniger fremde organische Substanzen, die an der Enzymwirkung nicht beteiligt sind. Je größer nun die Menge derselben ist, eine um so größere Ozonmenge wird von ihnen aufgebraucht und der Einwirkung auf das Enzym entzogen. War das Enzym im Wasser nicht vollständig löslich, so wurde die Lösung von der Ozonisation filtriert, um die Menge der nicht enzymatischen Stoffe zu verringern, zum Kontrollversuch wurde dann ebenfalls die filtrierte Lösung benutzt; die klaren Enzymlösungen waren natürlich auch nicht frei von fremden organischen Substanzen.

Die ozonisierte und gewöhnliche Luft wurde durch die Enzymlösungen in Drechselschen Waschflaschen, der ozonisierte und reine Sauerstoff in Cylinder oder Proberöhrchen geleitet — die Größe, insbesondere der Durchmesser der benutzten Gefäße, richtete sich nach der Menge der Enzymlösung — und es wurden beide so einander angepaßt, daß der Ozonstrom eine möglichst hohe Flüssigkeitsschicht passierte und so möglichst zur vollen Wirkung gelangte.

Zur leichteren Beurteilung der durch das Ozon hervorgerufenen Schädigung wurde der Wirkungswert des unbehandelten Enzyms gleich 100 gesetzt, und aus den analytischen Belegen der Wirkungswert des ozonisierten Enzyms berechnet.

Diastase.

Das Enzym wurde in Form eines 2-proz. Malzauszuges, hergestellt durch Extrahieren von Darrmalz (aus der Thomasbrauerei in München) mit destilliertem Wasser, zu Versuchszwecken benutzt. Durch die Lösungen wurde gewöhnliche und ozonisierte Luft oder reiner und ozonisierter Sauerstoff geleitet, während ein Teil unbehandelt blieb. Sodann wurden einige Kubikcentimeter dieser Enzymlösungen zu 2-proz. Stärkelösungen hinzugefügt und 3 Stunden bei 55° C stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die diastatische Kraft nach einer neuen, von Kleemann im Soxhletschen Laboratorium ausgearbeiteten, auf dem Verschwinden der Jodreaktion beruhenden Methode bestimmt.

Versuche.

Durch 100 ccm Malzauszug wurde eine Stunde lang ozonisierte Luft mit einer Geschwindigkeit von 1,8 l pro Stunde und 1,6 mg O_3 pro Liter geleitet; die Gesamtmenge des durchgeleiteten Ozons betrug 2,9 mg. Ebenso wurde durch die gleiche Menge Malzauszug unter denselben Bedingungen gewöhnliche Luft geleitet.

Steigende Mengen des unbehandelten, mit gewöhnlicher und mit ozonisierter Luft behandelten Malzauszuges (ausgedrückt in Proz. auf Stärke angewandter Malztrockensubstanz) wurden auf je 10 ccm 2-proz. neutraler Stärkelösung (lösliche Stärke nach Lintners Verfahren) einwirken gelassen und nach Ablauf der Einwirkungszeit von 3 Stunden bei 55° C eine Jodprüfung des Reaktionsgemisches unter bestimmten Mengenverhältnissen vorgenommen.

Die Jodreaktion verschwand bei

unbehandelt	gew. Luft	ozon. Luft
3,2 Proz.	3,5 Proz.	8,5 Proz. Malztrockensubstanz.

Setzt man die diastatische Kraft des unbehandelten Enzyms gleich 100,00, so ergibt sich für das

Luftpräparat	91,42
Ozonpräparat	37,64

Bei einem anderen Versuche wurde reiner und ozonisierter Sauerstoff 2 Stunden lang durch je 100 ccm Malzauszug geleitet, die Geschwindigkeit des Sauerstoffstromes betrug 1,5 l pro Stunde, der Ozongehalt 2 mg O_3 pro Liter, die Gesamtmenge des eingeleiteten Ozons 6 mg.

Die diastatische Kraft des Ozonpräparates konnte nicht mehr festgestellt werden, nur so viel ergab sich, daß das diastatische Vermögen zwar bedeutend geschwächt, aber keineswegs aufgehoben war; dagegen konnte die Einwirkung des reinen Sauerstoffes auf Diastase ermittelt werden. Die Jodreaktion verschwand bei

unbehandelt:	reinem Sauerstoff
3,25 Proz.	4,5 Proz. Malztrockensubstanz
100,00	72,22

Ein Abtöten der Diastase durch Ozon gelang erst nach 6-stündigem Durchleiten von ozonisierter Luft durch 50 ccm Malzauszug mit einer Geschwindigkeit von 1,5 l pro Stunde und 1 mg O_3 pro Liter, wobei insgesamt 9 mg O_3 zur Wirkung gelangten.

Emulsin.

Das Enzym wurde aus süßen Mandeln durch Extrahieren der zerriebenen Samen mit Chloroformwasser, Fällen mit Alkohol und Trocknen des mit Alkohol gewaschenen Niederschlages über Schwefelsäure im Vakuum dargestellt. Die amygdalin-spaltende Kraft wurde durch Bestimmung des Spaltungsproduktes Blausäure in einem aliquoten Teile nach der Methode von Liebig ermittelt.

Bei den ersten Versuchen wurde das Emulsin 24 Stunden auf Amygdalin einwirken gelassen; die nach Ablauf dieser Zeit bestimmte Blausäuremenge war beim unbehandelten und ozonisierten Emulsin gleich. Die aus diesem überraschenden Versuchsergebnisse zunächst mögliche Schlußfolgerung, daß das Emulsin entgegen früheren Beobachtungen sich gegen Ozon vollständig passiv verhält, erwies sich alsbald als irrig. Die Ursache dieser Erscheinung war vielmehr darin zu suchen, daß die angewandte Amygdalinmenge (2 g) für eine 24-stündige Einwirkungsdauer zu klein war, denn es fand in beiden Fällen, sowohl durch das unbehandelte als auch durch das ozonisierte Emulsin eine vollständige Spaltung des Amygdalins innerhalb der Versuchsdauer statt, indem der Blausäuregehalt weiterhin nicht mehr zunahm und die ermittelte Blausäuremenge ungefähr der berechneten entsprach.

Es mußte also entweder die Einwirkungsdauer verkürzt oder die

Amygdalinmenge erhöht werden; ich wählte das erstere. Zunächst setzte ich die Einwirkungsdauer auf 8 Stunden herab, dabei ergab sich allerdings eine Differenz, indem das ozonisierte Emulsin weniger Blausäure lieferte als das unbehandelte; da aber bei letzterem das Amygdalin wieder vollständig gespalten war, so konnte wohl eine Schädigung durch Ozon konstatiert werden, nicht aber ihre Größe. So ergaben sich z. B. durch die Einwirkung von je 0,2 g Emulsin auf je 2 g Amygdalin und je 100 ccm Wasser nach 8 Stunden bei 30° C beim unbehandelten Emulsin 102,6 mg HCN, beim ozonisierten (1,5 mg O_3) 86,4 mg HCN. Im ersteren Falle war die Spaltung des Amygdalins beendet, denn es fand keine Zunahme der Blausäure mehr statt und die gefundene Menge: 102,6 mg. war nahezu gleich der berechneten: 105,6 mg. Beim ozonisierten Emulsin war die Spaltung noch nicht beendet, denn der Blausäuregehalt stieg noch und erreichte sein Maximum ebenfalls bei 102,6 mg HCN.

Um den Schädigungsgrad durch Ozon genau feststellen zu können, durfte die Spaltung in keinem Falle beendet sein und es wurde daher die Einwirkungsdauer noch weiter, und zwar auf 1 Stunde herabgesetzt. Versuch: In 15 ccm einer Lösung von 0,15 g Emulsin wurde 1 Stunde lang ein Strom von ozonisiertem Sauerstoff mit einer Geschwindigkeit von 1,5 l pro Stunde und 2,4 mg O_3 pro Liter, zusammen 3,6 mg O_3 geleitet; die gleiche Menge wurde unter genau gleichen Bedingungen mit reinem Sauerstoff behandelt; eine dritte gleiche Menge blieb endlich unbehandelt. Jede derselben wirkte genau 1 Stunde bei 35° C auf je 2 g Amygdalin bei Gegenwart von 100 ccm Wasser. Die nach Ablauf der Einwirkungszeit ermittelte Blausäuremenge betrug bei

unbehandelt	59,4 mg HCN,	gespaltenes Amygdalin	56,25	Proz.,	100,00
reinem Sauerstoff	54,0 „ „	„ „	51,13	„	90,90
ozonis. Sauerstoff	27,0 „ „	„ „	25,56	„	45,45

Pepsin.

Die proteolytische Kraft des Pepsins (Pharmacop. Germanic. editio IV) wurde durch Einwirkung auf gekochtes Hühnereiweiß [1]) ermittelt. Aus dem koagulierten Eiweiß wurden Würfel geschnitten und bei 30° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Jeder dieser Würfel wurde vor dem Versuch gewogen, vorquellen gelassen, mit 0,25 g Pepsin, 100 ccm Wasser und 10 Tropfen Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,12 in Kölbchen zusammengebracht; die Einwirkungszeit betrug 24 Stunden bei 30° C, nach Ablauf derselben wurde das unverdaute Eiweiß wieder bei 30° C getrocknet und bis zur Gewichtskonstanz gewogen. Außerdem wurde die eiweißverdauende Kraft noch durch die Zeit bestimmt, welche zum Lösen einer bestimmten Eiweißmenge notwendig war; doch erwies sich diese Methode als weniger verläßlich und genau.

Die das proteolytische Vermögen herabsetzende Wirkung des Ozons ergab sich insbesondere aus folgendem Versuch:

Je 0,25 g Pepsin wurden in je 10 ccm Wasser gelöst; in die eine Lösung wurde 1 Stunde lang ozonisierter Sauerstoff mit einer Geschwindigkeit von 1,5 l pro Stunde und einem Ozongehalt von 2,4 mg pro Liter, also insgesamt 3,6 mg O_3, in die andere unter denselben Bedingungen reiner Sauerstoff geleitet, eine dritte Lösung endlich blieb unbehandelt. Zu diesen Pepsinlösungen wurden je 90 ccm Wasser hinzugefügt und ihr proteolytisches Vermögen in der oben beschriebenen Weise geprüft.

Die Versuchsergebnisse waren:

die unbehandelte Pepsinlösung	verdaute	0,2450 g	Eiweiß,	100,00
die mit reinem Sauerstoff behandelte Pepsinlösung	„	0,2210 g	„	90,20
die mit ozonis. „ „ „	„	0,0165 g	„	6,73

Invertin.

Das Invertin wurde aus Hefe dargestellt, sie wurde zunächst bei 30° C vollständig getrocknet, dann mit Quarzsand zerrieben, der wässerige Extrakt mit Alkohol gefällt, der Niederschlag mit Alkohol gewaschen und über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet. Die Invertinlösung wurde in verschiedenen Konzentrationen auf eine 4-proz. Rohrzuckerlösung 6 Stunden lang bei 35° C einwirken gelassen. Der Schädigungsgrad des Inversionsvermögens ergab sich aus der gewichtsanalytisch bestimmten Kupfermenge nach Meissl.

Versuche.

1 g Invertin wurde in 100 ccm Wasser gelöst, durch 50 ccm der Lösung wurde ozonisierte Luft mit einer Geschwindigkeit von 1,5 l pro Stunde und 1,5 mg O_3 pro Liter 2 Stunden lang geleitet, die einwirkende Ozonmenge betrug insgesamt 4,5 mg O_3. Je 10 ccm der ozonisierten und unbehandelten Invertinlösung wurden mit je 50 ccm 4-proz. Rohrzuckerlösung und je 40 ccm Wasser in Kölbchen gebracht und in einen Thermostaten von 35° C gegeben.

Die nach 6-stündiger Einwirkung gewichtsanalytisch ermittelte Kupfermenge betrug beim

unbehandelten Präparat	370,5 mg Cu,	100,00
ozonisierten „	274,0 mg Cu,	72,87

Viel intensiver war die Schädigung, wenn eine verdünntere Invertinlösung zur Ozonisation verwendet wurde, wie folgender Versuch zeigt:

0,25 g Invertin wurde in 100 ccm Wasser gelöst, durch 50 ccm der Lösung wurden in 2 Stunden 3,5 l ozonisierte Luft mit 1,5 mg O_3 pro Liter geleitet, wobei im ganzen 5,25 mg O_3 zur Einwirkung gelangten. 20 ccm dieser Lösung und ebensoviel der unbehandelten Invertinlösung wurden auf je 50 ccm 4-proz. Rohrzuckerlösung unter Zusatz von 30 ccm Wasser 6 Stunden bei 35° C einwirken lassen.

Das Resultat der Analyse war bei der

unbehandelten Invertinlösung	339,0 mg Cu,	100,00
ozonisierten „	9,0 mg Cu,	2,68

Ptyalin.

Das Ptyalin (käuflich) erwies sich als ziemlich widerstandsfähig gegen Ozon, und zwar desto mehr, je konzentrierter die der Ozonisation unterworfene Lösung war. So konnte durch Behandlung von 50 ccm einer 1-proz. Ptyalinlösung mit ozonisierter Luft, wobei durch 2 Stunden 3 l Luft mit 1,5 mg O_3 pro Liter, zusammen 4,5 mg O_3 die Enzymlösung passierten, keine wesentliche Schädigung beobachtet werden.

Eine relativ etwas größere Schädigung ergab folgender Versuch, bei welchem nur eine 0,5-proz. Ptyalinlösung der Ozonisation unterworfen wurde. Durch 50 ccm dieser Lösung wurde 2 Stunden lang ozonisierte Luft geleitet, Geschwindigkeit 1,5 l pro Stunde, Ozongehalt 1,5 mg pro Liter, zusammen 4,5 mg O_3. Je 10 ccm der unbehandelten und ozonisierten Enzymlösung (je 0,05 g Ptyalin enthaltend) wurden mit 50 ccm 2-proz. neutraler Stärkelösung (nach Lintner) und 40 ccm Wasser in

1) 10 Minuten lang in siedendem Wasser erhalten.

Kölbchen gebracht und 6 Stunden bei 35° C stehen gelassen; nach Ablauf dieser Zeit wurde der Traubenzucker nach Allihn bestimmt.

Versuchsergebnis:

unbehandelte Ptyalinlösung	181 mg Cu oder	92,6 mg Dextrose,	100,00
ozonisierte "	156 mg Cu "	79,6 mg "	86,18

Pankreatin.

Das amylolytische Vermögen des Pankreatins (käuflich) wurde analog wie beim Ptyalin bestimmt.

Das stärkelösende Enzym des Pankreatins erwies sich gegen Ozon bedeutend empfindlicher als Ptyalin, wie folgender Versuch ergab.

0,5 g Pankreatin in 100 ccm Wasser gelöst, durch 50 ccm dieser Lösung wurde ozonisierte Luft geleitet. Dauer 2 Stunden, Geschwindigkeit des Luftstromes 1,5 l pro Stunde, Ozongehalt 1,5 mg pro Liter, Gesamtozonmenge 4,5 mg O_3. Auch das Weitere war wie beim letzten Versuch mit Ptyalin.

Die gewichtsanalytisch bestimmte Kupfermenge betrug beim

unbehandelten Präparat	118 mg Cu oder	60,1 mg Dextrose,	100,00
ozonisierten "	23 " " "	12,5 " "	19,49

Ueber die Einwirkung des Ozons auf das eiweißverdauende und das fettspaltende Enzym des Pankreatins werden weitere Versuche ausgeführt.

Lab.

Das Enzym wurde in Form eines Normallabs, das mir Herr Prof. Dr. R. v. Soxhlet freundlichst zur Verfügung stellte, zu Versuchszwecken benutzt.

Versuch.

2 g wurden in 200 ccm Wasser gelöst; in 20 ccm dieser Lösung wurde ozonisierter Sauerstoff $1^1/_2$ Stunden lang mit einer Geschwindigkeit von 1,5 l pro Stunde und 2,4 mg O_3 pro Liter geleitet, die Gesamtmenge des eingeleiteten Ozons betrug 5,4 mg O_3. In die gleiche Menge Lablösung wurde unter denselben Bedingungen Sauerstoff allein geleitet, der Rest der Lösung blieb unbehandelt. Je 20 ccm der ozonisierten, der mit reinem Sauerstoff behandelten und der unbehandelt gebliebenen Lablösung wurden auf je 100 ccm aufgefüllt und von der 5fachen Verdünnung je 2 ccm zu je 100 ccm Milch bei 35° C hinzugefügt.

Die Gerinnung erfolgte beim

unbehandelten Lab in	$17^1/_2$	Minuten
Sauerstofflab "	$21^1/_2$	"
ozonisierten Lab "	112	"

Die drei Enzymlösungen und die Versuchsmilch wurden in den Eisschrank gegeben und nach $3^1/_2$ Stunden einer neuerlichen Prüfung unterzogen; die Versuchsbedingungen waren genau dieselben wie vorhin. Die Versuchsergebnisse waren:

Gerinnungszeit beim unbehandelten Lab	14	Minuten
" " Sauerstofflab	14	"
" " ozonisierten Lab	$62^1/_2$	"

Vergleicht man die Gerinnungszeiten der beiden Versuchsreihen, so fällt insbesondere die wesentliche Verkürzung derselben beim ozonisierten Lab auf. Diese Erscheinung dürfte dahin zu erklären sein, daß sich das Labenzym von der Vergiftung durch Ozon teilweise erholt hat. Indes ist auch an die Möglichkeit zu denken, daß das verwendete Prä-

parat noch Labzymogen enthielt, aus dem unter dem Einfluß von Ozon nach längerer Einwirkung Lab neu entstanden sein kann. Wenn auch Ozon Lab zerstört, so kann ihm gleichwohl die Wirkung zukommen, aus dem Zymogen Lab zu bilden, denn sehr verdünnte Säuren verhalten sich ebenso; frisch bereitete, schwachsaure Magenauszüge nehmen anfänglich an Gerinnungskraft zu, dann aber ebenso rasch wieder ab. Es sollen aber noch weitere Versuche darüber ausgeführt werden; ebenso soll geprüft werden, ob und inwieweit auch andere Fermente, die durch Ozon geschädigt werden, ihren ursprünglichen Wirkungswert wiedererlangen können.

II. Einwirkung des Ozons auf Gärungsprozesse.

Alkoholgärung.

Ueber die Einwirkung des Ozons auf Hefe liegen zwei ältere, einander diametral gegenüberstehende Beobachtungen vor. Während nach Gorup-Besanez[1]) die Hefe vom Ozon sehr energisch angegriffen wird, fand Ernst Fischer (l. c.), daß die Hefezelle dem Ozon energischen Widerstand leistet.

Ueber die Versuche von Gorup-Besanez fand ich keine näheren Angaben vor.

Fischer hat seine Versuche in der Weise ausgeführt, daß er je 10 g Preßhefe mit je 10 ccm Wasser angerührt hat und in einem Schälchen von etwa 10 cm Durchmesser ausbreitete und unter einer Glocke Ozon durch eine Glasröhre eine halbe Stunde lang unmittelbar darauf leitete und nach 15 Minuten umrührte; der Kontrollversuch wurde analog mit Luft behandelt. Dann wurden beide zu je 200 ccm 10-proz. Glykoselösung geschüttelt, bei Zimmerwärme bis folgenden Morgen stehen gelassen und der Alkoholgehalt untersucht; er betrug beim Ozonpräparat 1,8 Proz., beim Kontrollpräparat 1,9 Proz. Alkohol. Bei einem zweiten Versuch war die Versuchsanordnung dieselbe, nur wurden die Zuleitungsröhren in die Schälchen eingesenkt; das Ozonpräparat lieferte 2,35 Proz., das Kontrollpräparat 2,50 Proz. Alkohol.

Die Menge der durchgeleiteten Luft und ihr Ozongehalt sind nicht angegeben.

Die Ursache, warum die Hefe bei den von Fischer ausgeführten Versuchen durch das Ozon nicht affiziert wurde, dürfte zum Teil in der Versuchsanordnung zu suchen sein: die zur Ozonisation benützte Hefemenge war für die kurze Einwirkungsdauer zu groß, selbst wenn man annimmt, daß die durchgeleitete Luft den höchst erreichbaren Grad an Ozon enthielt; auch das Ausbreiten der Hefe in Schälchen bot dem Ozon, insbesondere beim Hineinleiten der ozonisierten Luft wenig Angriffspunkte auf die Hefezellen. Zum Teil hat die beobachtete Widerstandskraft des Gärvermögens der Hefe gegen Ozon ihren Grund in dem schon bei den Enzymen angeführten Umstande: die Hefezellen sind reich an organischen Stoffen, die bei der in obigen Versuchen angewendeten relativ großen Hefe- und kleinen Ozonmenge das Ozon vorzeitig zerstörten, so daß es keine Gelegenheit mehr fand, das wirksame Enzym der Hefe, die Zymase, anzugreifen.

Tolomei[2]) ließ Most unter Glocken, die steigende Mengen Ozon

1) v. Gorup-Besanez, E., Ueber die Einwirkung des Ozons auf organische Verbindungen. (Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. CX. 1859. p. 107.)

2) Tolomei, G., Ueber die Wirkung des Ozons auf einige Mikroorganismen.

enthielten, gären und beobachtete eine Begünstigung der Gärung durch kleine Ozonmengen; ähnliche Beobachtungen machte er auch bezüglich des Wachstums der Hefezellen.

Mit Rücksicht auf diese, einander widersprechenden Versuchsergebnisse suchte ich zunächst festzustellen, ob und in welchem Umfange das Gärvermögen der Hefe durch Ozon geschädigt wird. Je 1 g Bierhefe wurde zum Zwecke der Ozonisation in Wasser fein verteilt und in die so erhaltene Aufschwemmung in einem Proberöhrchen Ozon geleitet; durch die aufsteigenden Gasblasen wurde diese Suspension in einer fortwährenden Bewegung erhalten, wodurch dem Ozon immer neue Angriffspunkte auf die Hefezellen geboten wurden. Die Gärkraft der Hefe wurde durch die gewichtsanalytische Bestimmung der Kohlensäure nach Meissl[1]) ermittelt.

Versuche.

Es wurden 3mal je 1 g Hefe in je 30 ccm [gypshaltigem[8]] Wasser fein verteilt; in die eine Aufschwemmung wurde ein Strom von ozonisiertem Sauerstoff 1 Stunde lang mit einer Geschwindigkeit von 1,5 l pro Stunde und 2 mg O_3 pro Liter geleitet, die Gesamtmenge des wirksamen Ozons betrug 3 mg O_3, in die zweite Suspension wurde ebenso lang und mit derselben Geschwindigkeit reiner Sauerstoff geleitet, die dritte endlich blieb unbehandelt.

Nach 6-stündiger Einwirkung ergaben sich folgende Werte für die gebildete Kohlensäure bei

nnbehandelt	0,9452 g CO_2,	100,00
reinem Sauerstoff	0,8970 „ „	94,90
ozonisiertem Sauerstoff	0,7560 „ „	79,97

Eine stärkere Schädigung des Gärvermögens ergab folgender Versuch: Je 1 g Hefe wurde in 25 ccm Wasser verteilt, ein Präparat blieb unbehandelt, in das andere wurde ozonisierter Sauerstoff $1^1/_2$ Stunde lang geleitet, Geschwindigkeit des Sauerstoffstromes 1,5 l pro Stunde, Ozongehalt 2,2 mg pro Liter, zusammen 5 mg O_3.

Versuchsergebnis:

unbehandelt	1,0350 g CO_2,	100,00
Ozonisiert	0,5395 „ „	52,12

Noch intensiver wurden die Hefezellen bezw. ihre Enzyme affiziert, wenn nicht nur die Dauer der Ozonisation und die Ozonmenge, sondern auch die Menge des Wassers vermindert wurde, wie folgender Versuch zeigt.

Je 1 g Hefe wurde in je 5 ccm Wasser verteilt, die Ozonisation erfolgte mit ozonisierter Luft durch $2^1/_2$ Stunden, wobei 3,75 l Luft mit 1,6 mg O_3 pro Liter, also im ganzen 6 mg O_3, durchgeleitet wurde. Die Versuche ergaben bei

unbehandelt	0,9540 g CO_2,	100,00
Ozonisiert	0,0943 „ „	9,88

Aus diesen Versuchen folgt, daß das Gärvermögen der Hefe durch Ozon entschieden geschwächt wird; allerdings ist die Größe der Schädigung je nach der Intensität der Ozonisation sehr verschieden; durch

(Atti della Accad. dei Lincei. 1893. Vol. II. p. 354. Ref. in Kochs Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen. Jahrg. V. 1894. p. 98; Chem. Centralbl. Bd. I. 1894. p. 395.)

1) Vergl. König, J., Die Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe. 2. Aufl. 1898.

kleinere Ozonmengen erfolgt eine relativ geringe Schädigung der Gärkraft, entsprechend dem großen Gehalt an organischen Stoffen in den Hefezellen, eine stärkere Ozonisation aber setzt das Gärvermögen der Hefe bedeutend herab.

Da bei diesen Versuchen die Einwirkung der Hefe auf Rohrzucker erfolgte und dieser vor Eintritt der alkoholischen Gärung erst durch das Invertin der Hefe gespalten werden mußte, so ist es unentschieden, ob die Schädigung des Gärvermögens der Hefe durch Ozon mehr durch die Schwächung des rohrzuckerspaltenden oder des alkoholbildenden Enzyms der Hefe verursacht wurde, jedenfalls wurde durch die angewandten Ozonmengen keines der beiden Enzyme in seiner Wirksamkeit vollständig vernichtet. Weitere Versuche, bei welchen Hefe auf Rohrzucker und auf Traubenzucker zur Einwirkung gelangen soll und die auch mit Zymase ausgeführt werden sollen, werden zeigen, in welchem Umfange die Wirksamkeit des invertierenden und des alkoholbildenden Enzyms der Hefe durch Ozon beeinflußt wird.

Essiggärung.

Zur Züchtung des Essigfermentes wurde Bier benutzt; 10 ccm der fermenthaltigen Flüssigkeit wurden mit 100 ccm Wasser verdünnt und ozonisiert, eine gleiche Menge blieb unbehandelt, sodann wurden je 10 ccm absoluter Alkohol hinzugefügt und bei 30° C stehen gelassen. Die Acidität wurde in einem aliquoten Teil (10 ccm) durch Titration mit $\frac{N}{10}$-Natronlauge und Lackmustinktur als Indikator bestimmt.

Versuche.

Dauer der Ozonisation eine Stunde mit ozonisiertem Sauerstoff, Geschwindigkeit des Sauerstoffstromes 1,5 l pro Stunde, Ozongehalt 2 mg pro Liter, einwirkende Ozonmenge zusammen 3 mg O_3. Nach 3 Tagen ergab die Titration in 10 ccm folgende Werte:

Unbehandeltes Präparat	5,0 ccm $\frac{N}{10}$-NaOH	oder	30 mg $C_2H_4O_2$,		100,00
Sauerstoffpräparat	5,0 „ „	„	30 „	„	100,00
Ozonpräparat	4,0 „ „	„	24 „	„	80,00

Der Schädigungsgrad war demnach ein geringer und verminderte sich im weiteren Verlauf der Gärung fortwährend, indem die nachfolgenden Titrationen eine immer geringere Differenz in der Acidität ergaben; am 10. Tage war die Acidität in allen 3 Präparaten nahezu gleich. Bei einer halbstündigen Ozonisation war die Schädigung noch geringer und bereits nach 4 Tagen ausgeglichen.

Diese geringe Differenz in der Acidität des unbehandelten und ozonisierten Präparates konnte ihren Grund auch darin haben, daß das Ozon selbst einen Teil des Alkohols zu Essigsäure oxydierte, so daß das Essigferment trotzdem nicht unerheblich durch Ozon geschädigt sein konnte. Nach den Untersuchungen von v. Knieriem und Ad. Mayer[1]) oxydiert jedoch ozonhaltige Luft den Alkohol nicht zu Essigsäure; auch wäre diese Möglichkeit bei der obigen Versuchsanordnung sehr unwahrscheinlich.

Schließt man demnach die Oxydation des Alkohols zu Essigsäure durch Ozon aus, so würden die ausgeführten Versuche ergeben, daß die

1) v. Knieriem, W. und Mayer, Adolf, Ueber die Ursache der Essiggärung. (Landw. Versuchsstat. Bd. XVI. 1873. p. 328; Chem. Centralbl. 1873. p. 666).

Essigbakterien durch die angewandte Ozonmenge und bei den obigen Versuchsbedingungen in ihrer Wirksamkeit und Entwickelung nur vorübergehend geschwächt bezw. verzögert wurden; sie erholten sich alsbald und schienen dann sogar eine etwas erhöhte Tätigkeit entfaltet zu haben, da sie in der Essigbildung das unbehandelte Ferment einholten.

Eine endgültige Entscheidung werden erst Versuche mit Reinkulturen von Essigbakterien, die ich auszuführen beabsichtige, ermöglichen.

(Fortsetzung folgt.)

Ein Apparat zum Lösen und Filtrieren grosser Quantitäten Gelatine, Agar-Agar etc.

Von **C. Blecher**, Halle a./S.

Mit 1 Figur.

Es ist bekanntlich eine durchaus nicht leichte Aufgabe, dickliche Gelatinelösungen, Agar-Agar, geklärte Leim- oder kolloidale Präparate im großen Maßstabe, also beispielsweise in Quantitäten bis 10 l, zu bereiten. Das Lösen läßt sich auf einem entsprechend großen Wasserbade zur Not noch bequem ausführen, aber hinsichtlich des Filtrierens müssen alle bisher verwendeten Arbeitsgeräte nur als ein recht unvollkommener Notbehelf bezeichnet werden.

Der nachstehend beschriebene Apparat ist einfach und hat sich vor allem aber auch schon in der Praxis erprobt; er besteht aus 4 Teilen:

1) Aus dem Heizkessel *a*. Dieser ist aus lackiertem Eisenblech mit Tragegriffen gefertigt und dient zur Aufnahme des Lösungs- bezw. Absaugegefäßes. Der festschließende Deckel ist mit Knopf und zwei Durchbohrungen versehen, von denen die eine zur Einführung eines Thermometers *g* mittelst Stopfen bestimmt ist, während die andere dem zur Luftpumpe führenden Saugschlauch *c* bequemen Durchlaß gewähren soll.

2) Aus dem Lösungsgefäß. Es ist ein mit bestem säurebeständigen Email überzogenes eisernes Gefäß, das auf drei kurzen Füßen ruht. Die an seiner Innenseite angebrachten Griffe dienen zum leichten Transport. In der Figur ist dieses Gefäß nicht gezeichnet.



3) Aus dem Absaugegefäß *b*. In Form und Größe mit dem Lösungsgefäß übereinstimmend, unterscheidet es sich von diesem durch einen nahe dem Rande angebrachten Tubus *d*. In diesen wird ein rechtwinklig gebogenes Glasrohr eingesetzt, welches parallel der Wandung des Gefäßes durch den Tubus des Deckels geführt wird.

4) Aus dem Siebgefäß *c*, ebenfalls aus emailliertem Eisenblech bestehend, hat dasselbe einen perforierten Boden und nahe demselben einen Rand, der mittelst Dichtungsreifen aus Gummi *f* luftdicht auf die Umbörtelung des Absaugegefäßes paßt. Durch geeignete Klemmen werden beide Gefäße fest miteinander verbunden. Der Gebrauch des Apparates geschieht so, daß zunächst das Lösungsgefäß mit der zu lösenden Substanz und dem Lösungsmittel in den Heizkessel gestellt wird, welcher etwa 10 cm hoch mit Wasser gefüllt wird; das Wasser wird zum Sieden erhitzt und darin so lange erhalten, bis das Lösungsmittel die erforderliche Temperatur angenommen hat. Der Heizkessel wird hierbei mit seinem Deckel verschlossen. Nach vollständiger Lösung wird das Lösungsgefäß herausgenommen, das Absaugegefäß *b* mit dem Siebgefäß *c* in den Heizkessel hereingesetzt, letzteres durch den Gummiring *f* mit *b* luftdicht schließend. Der Boden des Siebgefäßes wird mit einer passend geschnittenen Scheibe aus gewaschenem Flanell, Koliertuch oder auch Filtrierpapier belegt und letztere schwach befeuchtet. Nunmehr wird die im Lösungsgefäß befindliche Flüssigkeit in das Siebgefäß gegossen, der Saugeschlauch durch die entsprechende Durchbohrung des Deckels hindurchgesteckt, der Deckel selbst aufgesetzt und der Schlauch mit der Pumpe verbunden. Während des unter Absaugen stattfindenden Filtrierens ist durch gelinde Wärmezufuhr die Temperatur der Lösung konstant zu erhalten. Nach beendigtem Filtrieren ist die Pumpe zunächst auszuschalten, sowie das Absaugegefäß herauszuheben. Die Gelatine etc. befindet sich jetzt in völlig klarem Zustande im Absaugegefäß und kann aus diesem für den Gebrauch entweder über den Gefäßrand oder aus dem Tubus abgefüllt werden. Durch Einstellen in den dauernd schwach erwärmten Heizkessel kann dabei die Gelatine- etc. Lösung bequem für längere Zeit in flüssigem Zustande erhalten werden.

Der neue Apparat, der sich speziell für bakteriologische etc. Laboratorien eignen dürfte, wird in drei Größen, und zwar für 2, 5 und 10 l von den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf, Ges. m. b. H., Berlin N, Chausseestraße 3, hergestellt und in den Handel gebracht.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 14.

Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Aus dem Institute für Gärungsgewerbe, Berlin.

Lindner, P., Eine einfache, leicht ausführbare Methode zur Orientierung über den Eiweißgehalt der Gerste mit Hilfe der Pappenheimschen Triacidlösung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXI. No. 27. p. 397—398.)

Die Methode beruht auf der Beobachtung, daß bei Ausfärbung von Gerstenschnitten mit Triacidlösung sich die Schicht unmittelbar unter der Aleuronschicht, also der Sitz des Reserveeiweiß, intensiv rot färbt, während die eiweißarmen resp. -freien Schichten blau bis grün gefärbt werden. Zur Ausführung der Bestimmung werden 0,2 g der fein gemahlenen Gerste in einem Zentrifugiergläschen mit 10 ccm Wasser und 6 Tropfen Farbstofflösung versetzt. Nach 5 Minuten guten Schüttelns wird das Gemenge in einer Handzentrifuge getrennt, die Flüssigkeit vom Rückstand abgegossen, dieser behufs Auswaschens nochmals mit Wasser angerührt und wieder zentrifugiert. Das Pulver wird dann mit wenig Wasser angerührt und auf starkem Kartonpapier innerhalb eines vorgezeichneten Kreises von 10 cm Durchmesser ausgebreitet. Je zahlreicher die roten Einsprenglinge in dem ausgebreiteten, oberflächlich mit Fließpapier abgetrockneten Pulver sind, desto eiweißreicher ist die Gerste. Zweckmäßig stellt man sich Vergleichsbilder mit Gersten von bekanntem Eiweißgehalt her. Mohr (Berlin).

Windisch, W., Die Ursache des Wachstums der Gerste. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXI. No. 36. p. 535.)

A. Nilson hatte behauptet (Amer. Brewer's Review. 1904. p. 24), daß das Wachstum der Gerste durch Bakterien ausgelöst würde, welche den in der Gerste vorhandenen Zucker in Milchsäure spalten sollten; die freie Säure hätte dann die Aufgabe, das unlösliche Eiweiß zu lösen und damit die Enzyme in Freiheit zu setzen, welche dann das Wachstum des Keimlings ermöglichen. Windisch zeigt, daß die von Nilson angegebenen experimentellen Grundlagen dieser Theorie absolut falsch sind, daß z. B. mit Toluolwasser behandelte Gerste nicht deswegen keimunfähig ist, weil die Gerstenbakterien abgetötet sind, sondern weil der Keimling selbst durch Toluol vernichtet wird. Auch nach der Infizierung solcher Gerste mit Gerstenbakterien gewinnt sie ihre Keimfähigkeit nicht wieder, andererseits läßt sich Gerste mit Sublimatalkohol vollkommen sterilisieren ohne ihre Keimfähigkeit zu verlieren. Mohr (Berlin).

Lindner, P., Prüfung der Hefe auf Homogenität. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXI. No. 41. p. 621.)

Unter Homogenität will Verf. verstanden haben, daß die Zellen einer Hefenprobe ungefähr die gleiche Größe, das gleiche Aussehen haben, derselben Art angehören und sich im selben physiologischen Zustand befinden. Die Prüfung darauf ist wichtig für Beurteilung des Verhaltens der Hefen bei der Anstellung zur Gärung, weiter zur Feststellung, ob eine einheitliche Hefe vorliegt (Untersuchung von Preßhefe auf Verfälschung mit Bierhefe) u. s. w. Die Prüfung geschieht am besten in der bei der biologischen Betriebskontrolle sich immer mehr einbürgernden Tröpfchenkultur; zu achten ist vor allem auf die Zahl der sprossenden Zellen und auf die Keimungsbilder. Zählung der auskeimenden wilden Hefen kann dazu dienen, den Infektionsquotienten in einer Hefen- oder Bierprobe festzustellen. Mohr (Berlin).

Schönfeld, F., Eine einfache Methode zur quantitativen Untersuchung der Brauereibetriebswürze auf Infektionsgehalt. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XXI. No. 41. p. 622.)

Verf. empfiehlt diese Untersuchung in der Weise vorzunehmen, daß mittels steriler Pipette je 0,4—0,5 ccm Würze in Vertiefungen einer starken Glasplatte, die deren 25 zeigt, übertragen werden; sechs solcher Platten werden in einem sterilen Drahtgestell unter steriler, feuchtgehaltener Glasglocke einige Tage im Thermostaten gehalten. Dabei bildet jeder entwickelungsfähige Keim eine Kolonie, die sich bei Durchmusterung der Platten scharf von der Würze auf dem durchsichtig-klaren Boden der Plattenvertiefungen abhebt. Ist in jedem Tropfen oder annähernd jedem Tropfen eine Entwickelung eingetreten, so ist das ein Zeichen starker Infektion, in guten Betrieben sind höchstens einige Tropfen infiziert, häufig sind sie alle steril. Mohr (Berlin).

Referate.

Collina, M., Azione degli alcaloidi sul movimento dei bacterii. (Archivio Farmacol. sperim. Vol. III. 1904. p. 411.)

Alkaloide können entweder die Bewegungsfähigkeit der Bakterien lähmen (Chinin, Morphium) oder beschleunigen (Atropin, Kodeïn). Die Wirkung der hemmenden Alkaloide ist bei passend verdünnter Zufuhr umgekehrt, indem sie die Bewegungen zunächst beschleunigen und erst bei andauernder Wirkung verlangsamen. Die Bewegungen, die der Alkaloideinwirkung am längsten widerstehen, sind die Dehnungs- und Flexionsbewegungen des Bakterienleibes, woraus Verf. schließt, daß die Hauptrolle bei der Translationsbewegung den Cilien zukommt. Pantanelli (Rom).

Molisch, Hans, Die Leuchtbakterien im Hafen von Triest. (Sitzungsberichte der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien. Math.-naturw. Klasse. Bd. CXIII. Abt. I. 1904. p. 513—527. Mit 1 Tafel.)

Verf. konnte sich von der Häufigkeit des Leuchtens toter Fische und anderer Seetiere, die im Hafen von Triest oder dessen Umgebung gefangen wurden, überzeugen; ein großer Teil der zum Verkaufe ange-

botenen Fische leuchtet bereits. In den Kellern der Fischer bot sich ihm ein recht eigenartiges Schauspiel dar: Manche Fische in den Körben leuchteten auf ihrer ganzen Oberfläche, andere aber nur an gewissen Punkten oder an gewissen Organen. Solche Fische können ohne Schaden gegessen werden. Wurden Seetiere von Triest und Umgebung nach Prag gesandt, so leuchteten sie entweder gleich nach der Auspackung oder erst 1—2 Tage darauf. Die physiologischen Eigenschaften der reingezüchteten Leuchtbakterien aus dem Triester Hafen wurden vom Verf. in dessen Werke: Leuchtende Pflanzen. Eine physiologische Studie. Jena 1904, klargelegt, wobei auch die gefundenen 4 Arten provisorisch zur Gattung Bacillus gestellt wurden. Das längere Studium dieser Arten und die genauere Fixierung der Begeißelung ergab, daß 3 von ihnen zu Microspira, eine zu Pseudomonas zu stellen sind.

Verf. beschreibt nun genau die Arten:

1) Microspira photogena Molisch, steht nahe dem Bacillus Fischeri (Beijer.) Migula, ist die gewöhnlichste Art. Stäbchen gerade oder Komma, auch bohnen- oder S-förmig mit abgerundeten Enden, häufig mit einer 2—3mal längeren Endgeißel, selten mit einem aus 2—3 Geißeln bestehenden Büschel, 0,45—2 μ lang, 0,3 μ breit (nach Messungen im Anilinblauwasser). Lebhafteste Bewegung, färbt sich gar nicht nach Gram, wohl aber in den sonstigen Anilinfarbstoffen; leuchtet matt-weißlich immer nur in Gegenwart von Sauerstoff. Nach 2 bis 3 Monaten verliert sie auf den gewöhnlichen Nährböden die Leuchtfähigkeit, wächst aber trotzdem weiter. Entwickelt sich zwischen 0—30° C, verflüssigt Gelatine, entwickelt in Nährgelatine mit 3 Proz. Traubenzucker kein Gas; Agar- und Kartoffelkulturen zeigen keinen charakteristischen Geruch.

2) Microspira tuminescens Mol. Recht häufig auf toten Fischen. 0,5—2 μ lang, 0,3—0,6 μ breit, mit polarer Geißel, die 1—3mal so lang als die Zelle ist, sonst so wie vorige Art. Verflüssigt Gelatine nicht.

3) Microspira gliscens Mol. Verflüssigt Gelatine nicht, ist 0,5—3 μ lang, Begeißelung u. s. w. wie bei voriger Art. Licht mattweiß, sehr schwach.

4) Pseudomonas lucifera Mol. Auf toten Fischen (Seezunge, Hering) der Nord- und Ostsee und des Hafens von Triest (Blennius, Platessa passer). In frischen Kulturen kugelige Formen und kurze Stäbchen, bei überimpften Kulturen aber auch längere Stäbchen und Involutionsformen in Form längerer Fäden; polare Geißel 2mal länger als die Zelle. Größe 1,3—2,5 μ, bei stäbchenförmiger 2,5 bis über 4 μ. Eigenbewegung stark, am besten in Plattenkulturen auf Salzagar zu bemerken. Wächst zwischen 42—31° C; verflüssigt Gelatine nicht, entwickelt nach 1—2 Tagen bei Zimmertemperatur in Salzgelatine mit 3 Proz. Traubenzucker reichlich Gasblasen. In Salzmilch und auf Salzkartoffeln lang anhaltendes und prächtiges Leuchten hervorrufend; die Art ist die am stärksten leuchtende Bakterie überhaupt. Das Licht einer jungen Strichkultur ist bereits am hellen Tage in einer Zimmerecke sichtbar und kann nachts auch auf $^1/_2$ m Entfernung im Scheine einer gewöhnlichen Kerze schon wahrgenommen werden. Das Spektrum ließ wegen seiner relativ großen Intensität für das ausgeruhte Auge auch Farben und zwar Grün und Blau erkennen! In den sonstigen Eigenschaften mit den anderen Arten übereinstimmend, doch leicht von Bacterium phosphoreum Mol., dem ebenfalls stark

leuchtenden Bakterium, durch folgende Merkmale unterschieden: Kolonieen rundlich, am Rande häufig unregelmäßig gelappt, häufig zerklüftet aus unregelmäßigen Brocken bestehend, zäh und in Brocken mit der Nadel abhebbar (bei Bact. phosphoreum dagegen kreisrund, homogen, butterweich, also leicht verschmierbar); Zellen beweglich, mit polarer Geißel (bei Bact. psosphoreum unbeweglich und geißellos). — Auf der Tafel werden die charakteristischen Kulturen abgebildet; in der Arbeit werden die verschiedenen Kulturen bei den 4 Arten auf das genaueste beschrieben. Matouschek (Reichenberg).

Benignetti, Diego, Di un germe termofilo isolato dai fanghi d'Acqui. (Riv. d'Igiene a Sanità pubbl. 1905.)

Verf. hat es unternommen, auszuforschen, ob in den Wassern und dem Schlamme des Thermalbades Acqui (Piemont) thermophile Bakterien vorhanden sind, was bezüglich des Wassers vollständig negativ ausfiel. Aus dem Schlamme dagegen sonderte Verf. einen kurzen, 2—4 μ dicken, unbeweglichen Bacillus aus, der zuweilen in Gruppen von 2 oder 3 Elementen auftrat, bisweilen auch isoliert vorkam. Er besitzt im allgemeinen große Zentralsporen, ist mit allen Anilinfarben und auch nach Gram färbbar, nicht pathogen und wächst an der Luft nicht. Die zu seinem Wachstum erforderliche Temperatur liegt zwischen 60—75°. Nachdem Verf. alles dies, sowie die einzelnen Züchtungsmerkmale in Betracht gezogen, hebt er hervor, daß keiner der anderen von anderen Autoren beschriebenen Thermophilen der Wasser dem von ihm isolierten entspricht, wonach er ihn für einen besonderen Keim hält. — Außerdem hält er dafür, daß besagter Keim sich wahrscheinlich in Beziehung bringen lasse mit einer der vielen in der Luft vorhandenen und in den Schlamm gefallenen Arten, der sich dann im Laufe der Zeit an das neue Medium gewöhnt hat. Bertarelli (Turin).

Lafar, F., Technische Mykologie. Ein Handbuch der Gärungsphysiologie für technische Chemiker, Nahrungsmittelchemiker, Gärungstechniker, Agrikulturchemiker, Pharmaceuten und Landwirte. Quellenverzeichnis und Sachregister. 138 p. Jena (Gustav Fischer) 1903.

Von Lafars „Technischer Mykologie" ist nur der erste Band erschienen, da es sich bei der Weiterarbeit zeigte, daß eine wesentliche Erweiterung geboten ist. Diese Erweiterung bringt das „Handbuch der technischen Mykologie", das Lafar unter Mitwirkung zahlreicher Spezialisten herausgibt und über das ausführlich in Kürze referiert werden wird. In dem vorliegenden Heft aber bringt L. noch den Quellennachweis der von ihm für die „Technische Mykologie" benutzten Literatur. Es werden dabei nicht nur die Originalzitate gegeben, sondern auch die Referate in den verbreitetsten Zeitschriften beigefügt. Diesen sehr wertvollen Nachweisen schließt sich ein von Dr. Alex. Kossowicz verfaßtes Register für den ersten Band der „Technischen Mykologie" an. Appel (Dahlem).

Grüss, J., Eine Ansicht über das Wesen der Hefe aus der Mitte des 17. Jahrhunderts. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XXVIII. 1905. No. 5.)

Verf. berichtet über eine im Jahre 1654 erschienene Schrift von Glauber, in welcher dieser sich über die Gewinnung von Weinstein

aus Weinhefe und über die Eigenschaften und Entstehung der Hefe auslässt. Kausch (Charlottenburg).

Callegari. R., Esperienze di vinificazione eseguite con fermenti selezionati nel triennio 1897—1899 a la R. Stazione Enologica di Asti. (Im Jahresbericht dieser Station. Juni 1901 bis Juli 1904. p. 1—24.)

Die mit vorzüglicher Klarheit und Genauigkeit ausgeführte Arbeit wurde infolge des Todes des Verfassers erst 1904 veröffentlicht. Die Versuche wurden in 60 l fassenden Glasbehältern ausgeführt. Zur Anwendung kamen einerseits natürliche Hefen, andererseits die Reinhefen Sassella und Barbèra der Station, sowie weitere 3 Reinhefen aus der pflanzenpathologischen Station in Rom. Die Temperatur des Gärlokals wurde auf 20—25° mittels besonderer Einrichtungen gehalten. Die Moste entstammten roten und weißen Trauben. Man verfolgte den Verlauf der Gärung durch periodische Bestimmung der in einer Stunde entwickelten Kohlensäure; in einigen Versuchen wurde auch der Alkohol periodisch bestimmt. Die Moste und die fertigen Weine wurden einer vollständigen Analyse unterworfen. Sämtliche Resultate werden in Tabellen graphisch dargestellt.

Es hat sich ergeben, daß die Anwendung reiner Hefen in der Praxis besonders bei der Herstellung weißer Weine nützlich sein kann, sei es, daß man dazu weiße oder rote Trauben verwendet. Eine weitere Anwendung der Reinhefe besteht in der Gärung von mit SO_2 sterilisierten Mosten. Schließlich wurde auch das Problem der Nachgärung von infolge zu hohen Zuckergehaltes unvollständig gegorenen Weinen mittels Zusatz von tüchtiger Reinhefe erfolgreich gelöst.

Der praktische Erfolg hängt in allen Fällen von der zymogenen Fähigkeit der angewandten Hefe ab. Man sollte daher vor jedem kellermäßigen Versuch mit noch nicht experimentierten Mosten oder Traubensorten eine Versuchsreihe im Laboratorium mit verschiedenen Heferassen ausführen, um die Hefe herauszuwählen, welche die stärkste Tätigkeit in dem betreffenden Most entfaltet. Pantanelli (Rom.)

Funaro, A. e Barboni, T., Su la lecitina del vino. (Staz. sperim. agrarie. Vol. XXXVII. 1904. p. 881—897.)

Weirich und Ortlieb (Chemikerzeitung. 1904) haben nach der Methode von Schulze und Likiernik einen hohen Lecithingehalt in einem alkohol- und eiweißreichen griechischen Wein gefunden. Diese Forscher meinen, daß die kräftigende Wirkung des Weines dem Lecithin zuzuschreiben und das Pasteurisieren zu vermeiden sei, weil sich das Lecithin bei 50° bereits zersetzen soll.

Verff. suchen nun den Lecithingehalt mehrerer italienischer Weine zu bestimmen. Sie wenden auch die Schulzesche Methode an, welche darin besteht, den Weinextrakt mit absorbiertem Alkohol und Quarzsand bei 50° zu behandeln. Im Alkoholextrakt wird dann die Phosphorsäure bestimmt und mit dem Hoppe-Seylerschen Faktor 7,2 multipliziert.

Es hat sich ergeben, daß Lecithin einen normalen Bestandteil des Weines darstellt, durchschnittlich 260 mg im Liter. Es ist auch im Traubenfleische vorhanden, braucht also kaum aus den Samen durch den sich bei der Gärung bildenden Alkohol ausgezogen zu werden. Man findet Lecithin auch in mit gekochtem Most hergestellten Weinen,

ebenso wie in den nachträglich alkoholisierten Weinen (Marsala). Keine Behauptung von Weirich und Ortlieb trifft zu; diese Forscher hatten sich mit allzu großer Eile auf die Analyse eines einzelnen Weines gestützt.
Pantanelli (Rom).

Magnanini, G. e Venturi, G. A., Ulteriori ricerche sopra l'inversione dello zucchero nei vini gessati. (Staz. sperim. agrarie. Vol. XXXVII. 1904. p. 200—209.)

Man ist über die Natur der beim Gipsen des Weines stattfindenden Reaktionen sowie ihrer Produkte nicht einig. Die meisten Forscher meinen, daß saure schwefelsaure Salze und freie Schwefelsäure vorhanden sind. Verff. haben schon früher (Staz. sper. agr. Vol. XXXV. 1902. p. 714) gezeigt, daß diese Anschauung mit den Gesetzen des Ionengleichgewichtes unvereinbar ist. So konnten Verff. mit Hilfe der Rohrzuckerinversionsmethode nachweisen, daß freie Schwefelsäure nicht vorhanden sein kann und daß sich die Methode selbst zum Nachweis geringer Mengen freier Schwefelsäure auch in ungegipsten Weinen vorzüglich eignet. Diese Schlüsse werden durch die vorliegende Untersuchung von 24, zum Teil gegipsten, Weinen aus Modena und Sizilien bestätigt.
Pantanelli (Rom).

Rüffer, E., Die Ursache des Kellergeschmacks im Bier und die Verhütung desselben. (Allgem. Brauer- u. Hopfenzeitung. Jahrg. XLV. 1905. No. 36.)

Verf. erklärt als Ursachen des Kellergeschmacks des Bieres eine unreine, dumpfige Kelleratmosphäre oder die Verwendung schimmelig gewordenen Hopfens. Als Gegenmittel empfiehlt er Reinluft bezw. eine gute Ventilation in den Kellereien. Auch müssen letztere bezüglich des Mauerwerks, der Wände und Türen gründlich gereinigt und besonders die Wände mit einem Kalkanstrich und zweimaligem Anstrich mit einer 5-proz. Mikrosollösung behandelt werden. Endlich kann im Frühjahr, Sommer und Herbst noch öfters eine Ausräucherung der Kellerräume mit auf glühende Holzkohlen gelegtem grünen Wachholderreisig oder Wachholderbeeren vorgenommen werden.
Kausch (Charlottenburg).

Will, H., Rotes Grünmalz. (Zeitschr. f. d. gesamte Brauwesen. Bd. XXVIII. 1905. p. 128—131.)

Den sogenannten Rosahefen wurde bis jetzt keinerlei Bedeutung für den Brauereibetrieb beigemessen. Der von dem Verf. mitgeteilte Fall zeigt jedoch, daß sie unter Umständen allein oder in Verbindung mit anderen Organismen recht unangenehme Erscheinungen hervorrufen können. Eine Probe aus dem Althaufen eines Malzes wies bei dem größten Teil der Körner an den Spitzen und an den Wurzeln eine mehr oder minder intensive Rotfärbung auf, welche durch die starke Entwickelung von Rosahefe hervorgerufen war. Nach einer Reihe von Versuchen waren zur Entstehung des roten Grünmalzes mindestens folgende Faktoren notwendig: 1) eine Infektion mit Sproßpilzen aus der Gruppe der Rosahefen. Diese war unzweifelhaft durch das Wasser aus der Reserve in der Brauerei gegeben. 2) Aufhören oder mindestens ein starkes Nachlassen des Keimprozesses und Liegen des Grünmalzes bei reichlichem Luftzutritt und reichlicher Feuchtigkeit. 3) Der Boden

muß für die Entwickelung der Rosahefe und insbesondere für Farbstoffbildung bei derselben vorbereitet sein. Möglicherweise sind es gewisse Bakterienarten, welchen diese Rolle zufällt, und war vielleicht in dem vorliegenden Fall die Gerste selbst der Träger derselben, so daß neben dem Bestand des Wassers aus der Reserve an Organismen noch die Flora der vorliegenden Gerste in Frage kommt. Die der Gerste selbst anhaftende ursprüngliche Flora von Bakterien, Sproß- und Schimmelpilzen tritt mit der durch das Weichwasser nachträglich Hinzukommenden in Konkurrenz. Der Ausgang dieses Wettbewerbes wird ebenfalls mitbestimmend sein, ob letztere zur Geltung kommt oder nicht.

Ausgeschlossen ist nicht, daß auch die Beschaffenheit der Gerste, welche eine stärkere Entwickelung der Bakterien zuläßt, eine Grundbedingung bildet. Autoreferat.

Faelli, G., Ricerche di batteriologia agraria nell'agro Romano. (Archivio d. Farmacologia sperimentale. Vol. III. 1904. p. 1—17.)

Verf. unterwirft den Boden des Agro Romano einer genaueren bakteriologischen Untersuchung. Es wurde die Zahl der in verschiedener Tiefe vorhandenen Kolonieen und die Art der Mikroorganismen bestimmt. In Tuffböden haben nitrifizierende Bakterien die Oberhand, in Pozzolanaböden sind dagegen die Humusbakterien ca. 3mal zahlreicher. Im ganzen bestehen ca. 75 Proz. der Kolonieen aus Bakterien, 15 Proz. aus Schimmelpilzen und Hefen, die übrigen Prozente verteilen sich zwischen Kokken und polymorphen Arten. Es folgen dann nähere Angaben über die Herstellung der angewendeten Nährböden.

Im Sommer 1903 wurden Impfversuche mit gewöhnlichen erdbewohnenden Formen ausgeführt. Auf den beimpften Parzellen wurden Weizen oder Leguminosen ausgesät. Die Impfung geschah 3mal, erstens kurz vor der Bestockung der Pflanzen, zweitens vor der Blüte, drittens nach dem Abblühen. Mitteilungen über die Erfolge dieser Kulturversuche sollen später folgen. Pantanelli (Rom).

Hornberger, Streu und Stickstoff. (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. Jg. XXXVII. 1905. Heft 2.)

Bei der Bedeutung, welche die Henryschen Versuche über die Stickstoffassimilation im toten Laub des Waldes für die Frage nach der Bedeutung der freilebenden, stickstoffsammelnden Bakterien überhaupt gewonnen haben, dürften die nachfolgenden, Henrys Behauptungen direkt widersprechenden Ergebnisse eine etwas eingehendere Erwähnung rechtfertigen. Verf. bespricht zunächst die bekannten Versuche Henrys (Journal d'agriculture prat. 1897. p. 411 u. 485), nach denen in den abgefallenen Blättern der Waldböden durch Vermittelung von Mikroorganismen eine ziemlich lebhafte Assimilation von atmosphärischem Stickstoff vor sich gehen soll.

Um die vorliegenden Verhältnisse eingehend zu prüfen, hat Verf. Versuche mit Blättern bezw. Nadeln von Eiche, Buche, Fichte, Esche und Akazie angestellt, die im Spätherbst 1902 gesammelt waren, und bis zur Verwendung im Hause auf mit Papier belegten Hürden ausgebreitet gegen Staub geschützt lagen. Von Esche und Akazie wurden nur die Fiedern ohne die Blattspindeln verwendet.

Benutzt wurden weiter, unter tunlichster Einhaltung der Bedingungen und Verhältnisse, unter denen Henry gearbeitet hatte — die vorer-

wähnte französische Mitteilung gibt hierüber nur teilweise Auskunft — quadratische Zinkblechgefäße von 10 cm Höhe und 20 cm Seitenlänge, deren Boden siebartig durchlocht war. Unmittelbar unter jedem solchen Kasten — dies ist eine Neuerung gegenüber Henrys Methode — befand sich ein eigens konstruierter Zinktrichter mit Ablaufrohr, aus dem durch den Siebboden gehendes Wasser ohne Verlust in eine Flasche gelangte, ohne daß dadurch die Ventilation von unten verhindert worden wäre. Auf den Siebboden in jedem Kasten wurde ein Blatt Filtrierpapier gebreitet, und darauf kam in sechs der Kästen je ein plattenförmiges Stück Buntsandstein, während 2 Kasten ohne Stein blieben. Die Kasten wurden dann mit den genügend gemischten Blättern beschickt, nachdem in diesen Trockensubstanz und Stickstoff bestimmt worden war. Zur Bedeckung dienten federnde Drahtnetze. Die ganze Einrichtung verblieb ein volles Jahr im Freien und wurde bei stärkerem Regen durch ein Holzdach geschützt, um eine übermäßige Vermehrung der Sickerwässer zu verhindern.

Die Ergebnisse bringt Verf. in der folgenden Tabelle (vergl. Tabelle p. 425).

Nachdem Verf. noch darauf hingewiesen hat, daß für die vorliegenden Fragen auch die Fähigkeit der verwesenden Streu, und des Bodens, atmosphärische Stickstoffverbindungen zu absorbieren, eine Bedeutung haben kann, kommt er zu dem Schluß:

Die von Henry angegebene, nach der zitierten Mitteilung verhältnismäßig ergiebige Stickstoffquelle, — darin bestehend, daß die Streu (mit Hilfe von Mikroorganismen) freien Luftstickstoff fixiert, und dadurch ihren absoluten Gehalt an Stickstoff vergrößert — hat hier also so gut wie vollständig versagt, ist jedenfalls mehr negativ als positiv in die Erscheinung getreten. Sie scheint demnach, wenn überhaupt, nur in besonderen Fällen und unter besonderen Umständen sich zu betätigen, und dann wäre ihre Bedeutung eine wesentlich geringere, als es nach jenen Veröffentlichungen den Anschein hatte.

Verf. erwähnt außerdem noch eine wesentliche Einschränkung früherer Behauptungen, die Henry in einer neuen Veröffentlichung (Revue de Eaux et Forets. 1904. p. 33) bringt: „Auf sehr armem und trockenem Sandboden findet entweder keine (Buche), oder nur eine sehr unbedeutende (Kiefer, Fichte) Zunahme des Stickstoffgehalts, niemals aber ein Verlust von Stickstoff statt".

Verf. bezweifelt, daß der Schluß dieses Satzes richtig sei. (Nachdem das vorliegende Gebiet erst kürzlich durch die Mitteilung Süchtings [Versuchsstation Marburg] über die auf abgestorbenen Blättern festgestellten Stickstoffsammler eine Erweiterung erfahren, dürften die vorstehend geschilderten Angaben, wenn auch eigentliche Parallelversuche fehlen, doch große Beachtung beanspruchen, da sämtliche Versuche nahezu völlig nach einer Richtung fallende Resultate ergeben. Dankenswert ist auch die Mitteilung der analytischen Grundlagen, die eine Beurteilung der bei Probenahme und Stickstoffbestimmung erzielten Genauigkeit ermöglichen.)

Paul Ehrenberg (Breslau).

Koning, Biologische und biochemische Studien über Milch. I. Teil: Die bakterizide Phase. Uebers. von **Johs. Kaufmann.** (Milchwirtschaftl. Centralbl. Bd. I. 1905. Heft 2 u. 3.)

Gelegentlich der Ausführung einer größeren Zahl von Milchuntersuchungen, mit denen Verf. seitens der Gesundheitskommission zu Bussum

Beschickung	Vorher	im Kasten	im Sickerwasser Stickstoff g	Stickstoff im ganzen abzüglich des Niederschlagsstickstoffs[1] g	Gewinn (+) bezw. Verlust (—) an Stickstoff g	Gewinn (+) bezw. Verlust (—) an Stickstoff in Proz. der Trockensubstanz	Verlust an Trockensubstanz g
I. Eiche mit Stein	70 g lufttrocken = 62,45 g trocken darin 0,718 % = 0,448 g N	60,95 g lufttrocken = 56,69 g trocken darin 0,776 % = 0,440 g N	Gesamt-N 0,0082 Ammon-N 0	0,441	—0,007	—0,011	9,23
II. Eiche ohne Stein	wie vorstehend	61,70 g lufttrocken = 56,71 g trocken darin 0,789 % = 0,442 g N	Gesamt-N 0,0259 Ammon-N 0,0170	0,461	+0,013	+0,021	9,20
III. Buche mit Stein	55 g lufttrocken = 49,00 g trocken darin 0,818 % = 0,401 g N	49,94 g lufttrocken = 45,50 g trocken darin 0,905 % = 0,411 g N	Gesamt-N 0,0070 Ammon-N 0,0028	0,411	+0,010	+0,020	7,14
IV. Buche ohne Stein	wie vorstehend	49,89 g lufttrocken = 45,57 g trocken darin 0,873 % = 0,397 g N	Gesamt-N 0,0052 Ammon-N 0	0,395	—0,006	—0,012	7,20
V. Fichte mit Stein	320 g lufttrocken = 288,58 g trocken darin 1,112 % = 3,209 g N	280,1 g lufttrocken = 255,7 g trocken darin 1,228 % = 3,141 g N	Gesamt-N 0,0078 Ammon-N 0	3,142	—0,067	—0,023	11,39
VI. Esche mit Stein	85 g lufttrocken = 75,78 g trocken darin 1,893 % = 1,435 g N	53,96 g lufttrocken = 47,93 g trocken darin 2,733 % = 1,309 g N	Gesamt-N 0,0153 Ammon-N 0,0025	1,317	—0,118	—0,156	36,75
VII. Akazie mit Stein	70 g lufttrocken = 62,64 g trocken darin 2,891 % = 1,810 g N	53,59 g lufttrocken = 47,39 g trocken darin 3,552 % = 1,683 g N	Gesamt-N 0,0470 Ammon-N 0,0299	1,723	—0,087	—0,139	24,35
VIII. leer mit Stein	—	—	Gesamt-N 0,0072 Ammon-N 0,0024	—	—	—	—

1) Anmerkung: Die 7 mg gebundenen Stickstoffs, die, als durch die atmosphärischen Niederschläge zugeführt, in dem Apparat VIII ermittelt wurden, sind von dem gesamten Stickstoff abgezogen.

(Niederlande) beauftragt worden war, konnte derselbe in der bei 10° C aufbewahrten Handelsmilch stets das Auftreten der bakteriziden Phase mehr oder minder deutlich konstatieren. Ueber diesen Gegenstand wurden ca. 30 spezielle Versuche durchgeführt, über die nach kurzer Besprechung der Literatur referiert wird. Leider ist die Arbeit ziemlich unübersichtlich, da Verf. sich im wesentlichen mit einer Reproduktion seiner chronologisch geordneten Journalnotizen begnügt.

Auf gewöhnliche Weise ermolkene Milch, rasch abgekühlt und in offenen Schalen im Keller bei 11° aufgestellt, zeigte innerhalb 12 Stunden keine Veränderung der Bakterienzahl, nach 24 Stunden starke Zunahme (Versuch 1). Erfolgte die Aufbewahrung in verschlossener Flasche, so fand innerhalb 16—24 Stunden in der Regel eine Verringerung der Keimzahl statt, doch hielt sich dieselbe bei relativ keimarmem Material auch mitunter längere Zeit auf nahezu gleicher Höhe (Versuch 3, 13, 4). Wurde die Milch nicht gekühlt, sondern 28° warm im Keller bei 11° aufgestellt, so war die Zahl innerhalb 12 Stunden verzehnfacht (Versuch 2), wurde sie zwar gekühlt, aber bei 22° aufbewahrt, so war bereits nach 6 Stunden eine Zunahme bemerklich, nach Verlauf von 18 Stunden hatten sich die ursprünglich vorhandenen 143000 Bakterien auf 28 Millionen vermehrt und zwar ohne Aenderung des Säuregrades (Versuch 8).

Bei gebrochenem Melken ergab es sich, daß die ersten Strahlen ungefähr 4mal so viel Keime enthielten als die mittleren, und daß bei jenen die bakterizide Phase kürzer war als bei diesen (Versuch 17, 19.) Die letzten Strahlen waren wieder etwas bakterienreicher als die mittleren (Versuch 21, 23).

Biestmilch ließ innerhalb 18 Stunden einen sehr starken Rückgang von 25000 auf 8000 erkennen (Versuch 11), besonders deutlich, wenn sauber gewonnen (Versuch 18), dagegen konnte in einer auf die übliche Art ermolkenen Probe innerhalb 6 Stunden keine deutlich wahrnehmbare Verringerung der Keimzahl wahrgenommen werden und nach Verlauf von 24 Stunden war sie bereits 6mal so hoch als im Anfang (Versuch 14). Doch fand auch bei bakterienreicher Biestmilch in einem Falle eine starke Verringerung statt (Versuch 29). Andere Proben Colostrummilch bei 22 und 37° aufbewahrt, zeigten die niedrigste Zahl nach Verlauf von 5 Stunden; bei 37° war die Bakterizidie stärker als bei 22° (Versuch 25).

Mit wenig frischer Milch geimpfte Biestmilch wies innerhalb 9 Stunden die stärkste Reduktion der Bakterienzahl auf (Versuch 15). Wurde sterilisierte Magermilch mit etwas roher Milch versetzt, so hielten sich die eingebrachten Bakterien entweder innerhalb 27 Stunden auf gleicher Höhe oder vermehrten sich bereits nach 3 Stunden (Versuch 20, 22).

Milchserum durch Laben bei 35° erhalten, durch Filtration sterilisiert und mit frischer Milch geimpft, zeigte bei 10—11° innerhalb 18—30 Stunden deutlich bakterizide Eigenschaft, die durch dem Impfen voraufgegangenes Kochen aufgehoben wurde (Versuch 9). — Biestmilchserum, auf gleiche Weise gewonnen, aber nicht sterilisiert und mit etwas frischer Milch versetzt, rief ebenfalls innerhalb 6—9 Stunden einen merklichen Rückgang der Keimzahl hervor (Versuch 12, 16). — Ebenso erwies sich nicht steriles Blutserum den Bakterien der eingeimpften Milch gegenüber deutlich bakterizid (Versuch 20).

Die vorstehend referierten Versuche lassen den Wert möglichst

sauberer Gewinnung und Aufbewahrung der sofort nach dem Melken gekühlten Milch deutlich hervortreten. Sie lassen ferner erkennen, daß das Erhitzen vernichtend einwirkt auf die bakteriziden Eigenschaften der Milch (die Verf. entgegen dem üblichen Sprachgebrauch „toxische“ Eigenschaften und dementsprechend die bakteriziden Stoffe „Toxine“ nennt), und daß diese besonders bei 37° deutlich hervortreten. — Uebrigens sind die Zahlen ziemlich ungenau, da bei Uebertragung der Verdünnungen mit Platinösen, die 3,050 mg (?) Milch fassen sollten, gearbeitet wurde. Die Unterschiede zwischen den Parallelplatten betrugen auf 1 g Milch berechnet „ein paar Hundert Kolonieen“, außerdem war innerhalb ein und derselben Versuchsreihe die Länge der Beobachtungszeit mitunter recht verschieden (1—8 Tage).

Wie in anderen Fällen hat allerdings auch hier die Zahl als solche wenig Bedeutung, weil die bakteriziden Stoffe verschieden auf die differenten Bakterienspecies einwirken. So wurde Verf. in einigen Fällen (Versuch 6, 12, 18, 19, 20, 23) darauf aufmerksam, daß während der bakteriziden Phase besonders Bact. coli, Bac. fluorescens liquefaciens, mesentericus, sowie „einige allgemein verbreitete Milchbakterien“ eine starke Verminderung erlitten. Etliche, durchaus unzulängliche Bakterienbeschreibungen werden gegeben (Versuch 18, 29).

Auch mit Reinkulturen wurden einige Versuche ausgeführt: Möglichst steril gewonnene Milch und Biestmilch, geimpft mit Coli, ließ bei 12—15° C sehr intensive Verminderung der Keimzahl innerhalb 12 bezw. 30 Stunden erkennen, ähnlich, wenn auch nicht so intensiv, bei Bact. acidi lactici Hueppe (Versuch 28). Steriles Milchserum mit einer (nicht näher beschriebenen) Stallluftbakterie infiziert, zeigte ebenfalls deutlichen Rückgang innerhalb 12 Stunden, welche Erscheinung auch in diesem Falle durch voraufgegangenes Kochen des Serums aufgehoben wurde (Versuch 9). In möglichst steril gewonnenem, mit Coli beimpften Blutserum hielt sich die Keimzahl bei 9—11° während 79 Stunden ungefähr auf gleicher Höhe, bei 22° machte sich dagegen innerhalb 31 Stunden eine deutliche Abnahme bemerklich. Aehnlich verhielt sich Fluorescens liquefaciens, während Subtilis nach Verlauf von 19 Stunden überhaupt nicht mehr wahrgenommen werden konnte (Versuch 24).

Die Untersuchungen sollen fortgesetzt werden.

Löhnis (Leipzig).

Villard, J., Contribution à l'étude cytologique des zoochlorelles. (Comptes rendus de l'Académie des Sciences. 1903. 15 juin.)

Verf. wendet bei Paraffinschnitten, die durch Picroformol fixiert sind, die Färbemethoden mit Polychromblau, Methylenblau, Hämalaun, Gentianaviolett etc. an und zeigt, daß die Zoochlorellen von Hydra viridis, Paramaecium Bursaria und Stentor polymorphus metachromatische Körperchen enthalten. Er erblickt in dieser Tatsache einen neuen Anhaltspunkt, um die Zoochlorellen mit den niederen Algen zu identifizieren, und ein historisches Kennzeichen, welches sie von den Zellprodukten (Leuciten und anderen Organiten) unterscheidet. Er weist darauf hin, daß dieses Kennzeichen für die Diagnose zahlreicher endocellulärer Parasiten verwendbar ist. Da er bemerkt hat, daß Zahl und Volumen der metachromatischen Körperchen in den Zoochlorellen desselben Tieres verschieden sind, und daß sie in mehreren von ihnen fehlen, so schließt er daraus auf eine Veränderung in der Struktur und

Vitalität dieser Zoochlorellen. Er findet analoge Tatsachen bei der Untersuchung der Teilungen dieser Algen im Innern des Tieres, Teilungen, welche häufig unvollständig bleiben, hauptsächlich den Kern betreffen, aber sich selten bis zur Zweiteilung des Pyrenoids und dem Auftreten von Teilungsebenen fortsetzen. Hinsichtlich der Kernteilungsfiguren, der Beschaffenheit des Kernes (Membran, Nukleoplasma mit zentralem Nucleolus) und der metachromatischen Körperchen findet der Verf. eine Verwandtschaft zwischen der Beschaffenheit der Zoochlorellen und derjenigen der Hefearten. Guilliermond (Lyon).

Dangeard, Sur le développement des périthèces dans les Ascobolées. (Compt. rend. de l'Acad. des Scienc. 25 janvier 1904.)

Jankewsky hat zuerst die Entwickelung der Perithecien bei den Axoboleen auf Kosten eines wurmförmigen Skoleciten beschrieben.

Harper hat gezeigt, daß der Skolecit mehrere vielkernige Glieder enthält, und daß die Kerne und der Inhalt dieser Glieder in dasjenige Glied (Ascogon) übergingen, das bestimmt ist, die ascogenen Hyphen zu bilden.

Verf. nimmt diese Untersuchung bei verschiedenen Ascoboleen und auch bei den verwandten Genera Saccobolus und Ascophanus wieder auf. Es ist ihm gelungen, diese verschiedenen Genera zu züchten, und so die ganze Entwickelung zu verfolgen. Er kommt zu folgenden Ergebnissen: Der Skolecit besteht aus mehreren vielkernigen Gliedern, aber im Gegensatz zu Harper ergießt sich der Inhalt dieser Glieder nicht in das Ascogon. Die Scheidewände, welche diese Glieder trennen, sind wohl durchlöchert, aber das ist bei den Gliedern des Skoleciten nichts Besonderes, da gleiche Durchlöcherungen bei der Mehrzahl der Pilze vorkommen. Doch degeneriert eine gewisse Anzahl der Glieder des Skoleciten. Das Pseudoparenchym des Peritheciums und die Paraphysen entwickeln sich auf Kosten der Glieder des Skoleciten; diese letzteren ergeben zwei oder drei Filamente, welche sich um die ascogenen Filamente rollen und, indem sie sich verzweigen, das Pseudoparenchym und die Paraphysen bilden. Das Ascogon bildet die ascogenen Filamente, welche sich wie bei den Pilzen entwickeln, wo Verf. sie zuvor studiert hat. Es existiert also keine Befruchtung zwischen den Hyphen des Skoleciten, die de Bary als Antheridienzweige angesehen hatte, und den ascogenen Hyphen. Guilliermond (Lyon).

Ruhland, Willy, Studien über die Befruchtung der Albugo Lepigoni und einiger Peronosporeen. (Jahrb. für wissenschaftl. Botanik. Jahrg. XXXIX. 1903. p. 135—167. Mit Tafel II—III.)

Der erste Abschnitt handelt über Albugo Lepigoni. Die Oosporen findet man nur im fleischigen Blattgewebe des Wirtes, Spergula marina. Das Plasma des jungen Oogoniums, das 60—90 Zellkerne besitzt, zeigt eine schaumige Struktur. Die Kerne wachsen nun schnell heran; das primäre Ooplasma wird zur Hülle der Kerne und läßt sich sehr gut färben. Im Antheridium und Oogonium vollzieht sich darauf die erste Mitose gleichzeitig und simultan, wobei die Kernspindel intranuklear entsteht. Zugleich geht die Differenzierung in eine Oo- und Periplasmazone vor sich. Während die um die einzelnen Kerne liegenden Ooplasmamassen miteinander verschmelzen, wandern die Kerne in die Periplasmazone aus, wo die Teilungen beendigt werden. In dieser Zone findet man schließlich etwa die 5fache Zahl der früher vorhanden

gewesenen Zellkerne vor, ein Zeichen, daß mehrere Karyokinesen stattfinden müssen. In der Oosphäre, die aus dem primären Ooplasma hervorgegangen ist, bildet sich ein ziemlich großes Cönocentron, das ein lichtbrechendes, an Reservestoffen reiches Plasma besitzt. Mit einer äußerst raschen Geschwindigkeit bewegt sich der in das Ooplasma eingetretene weibliche Kern direkt auf das Cönocentron. Die Rezeptivpapille, für welche Verf. das Wort Perforationspapille setzt, ist hier nur als schwache Vorwölbung zu sehen. Hat der Befruchtungsschlauch des Antheridiums mehr als einen Kern, so bleiben außer einem alle im Schlauche zurück; der eine aber (und nur einer) dringt in das Ei selbst. Vom Cönocentron gehen recht feine Strahlen in die Umgebung aus, über deren Natur vorläufig nichts Genaueres bekannt ist. Die Strahlen verschwinden bald. Die Sexualkerne kommen in Berührung und treten in das Cönocentron über, wo sie erst weiter wachsen, um dann miteinander zu verschmelzen. Solange die Oospore nicht ganz reif ist, sieht man im Periplasma die Kerne deutlich, durch Färbung werden sie aber immer schlechter nachweisbar und zuletzt sehen sie wie leere Bläschen aus. Daher kommen Teilungen nicht mehr vor. Im Gegensatze zu anderen Albugo-Arten findet eine Aufsaugung des Periplasmas durch die junge Oospore nicht statt.

Der zweite Abschnitt behandelt Peronospora Alsinearum. Die Untersuchungen des Verf. bilden eine Bestätigung der von Wagner angestellten. Die Befruchtung ist ähnlich wie bei Albugo Lepigoni. Fast plötzlich geht die Differenzierung des Oogons in Oo- und Periplasma, sowie die Bildung des Cönozentrums vor sich. Die beiden Sexualkerne verschmelzen aber erst dann miteinander, wenn die Sporenhüllen fertig sind.

Der dritte Abschnitt befaßt sich mit Sclerospora graminicola. Bei der Gattung Sclerospora tritt die geschlechtliche Fortpflanzung bedeutend häufiger auf als die ungeschlechtliche (durch Konidien). Vom Mycel wandern nur je 12—16 Kerne in die anfänglich recht dünnwandigen Oogone ein. Ein Cönocentron fehlt. Ein Befruchtungsschlauch durchbricht am Antheridium eine konkave verdünnte Stelle und wächst bis zur Oosphäre, dringt in diese aber nicht ein. Wieder gelangt nur ein Kern ins Ei. Merkwürdigerweise teilt sich der noch unbefruchtete weibliche Kern; später geht der eine Tochterkern zu Grunde, während der andere neben dem männlichen Kerne noch recht lange im Ooplasma liegen bleibt. Die Ursache dieser Erscheinung ist auf den Mangel eines attraktiven Cönocentrons zurückzuführen. Das den weiblichen Kern umhüllende Zentralplasma geht verloren; eine Verschmelzung der Kerne aber findet wahrscheinlich erst knapp vor der Keimung statt.

Der vierte Abschnitt ist der Plasmopara densa gewidmet. Die Entwickelungsgeschichte der Befruchtungsorgane ist hier fast dieselbe wie bei Sclerospora.

Verf. konnte bei all den untersuchten Arten auch teratologische Fälle studieren.

Den Schluß der Arbeit bilden allgemeine Erörterungen über die Entwickelung der Phykomyceten. Hierbei konnte Verf. nachweisen, daß je kleiner die Perforationspapille (siehe oben) bei Arten des Genus Albugo ist, desto größer ist das Cönocentron. Die größte Papille hat Albugo Portulacae, die kleinste A. Lepigoni. Albugo Bliti, Tragopogonis und caudida bilden dann Verbindungsglieder dieser beiden Extreme. Matouschek (Reichenberg).

Arthur, J. C., The genus Puccinia. (Proceeding of Indiana Academy of Science for 1902. Indianopolis 1903. p. 81—83.)

Verf. stimmt mit O. Kunze darin überein, den Genusnamen Puccinia durch Dicaeoma zu ersetzen, da der als Puccinia simplex von Willdenow 1787 in der „Flora Berolinensis" bezeichnete Pilz, bei dem zugleich der Gattungsname Puccinia zuerst angewendet wurde, sicher keine Uredinee ist. Matouschek (Reichenberg).

Sydow, H. et P., Novae fungorum species. (Ann. mycologici. Vol. II. 1904. p. 162—175.)

Eine Zusammenstellung von neuen Pilzen der verschiedensten systematischen Zugehörigkeit und örtlichen Herkunft. Unter den parasitisch lebenden Arten sei besonders hervorgehoben eine Reihe von Neger in Chile gesammelten blattbewohnenden Pilzen, deren meiste der Familie der Perisporiaceen angehören und einen wesentlichen Charakterzug der südchilenischen Waldvegetation ausmachen (vergl. Centralbl. f. Bakt. u. Paras. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 536), nämlich: Asterina Libertiae auf Libertia sp., Ast. Negeriana auf Escallonia pulverulenta, Ast. dilabens auf Sarmienta repens, Asterella macularis auf Myrceugenia Pitra, Ast. Gardoquiae auf Gardoquia multiflora, Parodiella Negeriana auf Berberis linearis, Dimerium olivaceum auf Cynoctonum nummulariaefolium, Meliola autumnalis auf Geum chilense, Meliola exilis auf Gaultheria sp., M. Negeriana auf Lomatia obliqua, Mel. Cookeana var. Saccardoi auf Litsea mollis, M. Cookeana var. Duvanae auf Duvana dependens etc. Ferner seien hervorgehoben einige neu aufgestellte Gattungen der Dothideaceen, nämlich: Microcyclus (eine Dothidella mit hyalinen Sporen und oberflächlichem scheibenförmigen Stroma), Phaeodothis (von Dothidella durch gefärbte Sporen verschieden), Maurodothis (Stroma oberflächlich, scheibenförmig, aber Sporen gefärbt.) Neger (Eisenach).

v. Höhnel, F., Mykologisches. V. Ueber Phlyctospora fusca Corda. (Oesterr. botan. Zeitschr. Jahrg. LV. 1905. p. 51—53.)

Phlyctospora fusca wurde 1841 von Corda in Sturm, Deutschlands Flora. Pilze. Heft 19. p. 51, beschrieben und auf Taf. 16 abgebildet. Er stellte ihn zu den Sklerodermaceen. G. Beck bestimmte 1886 einen von Gloggnitz in Niederösterreich stammenden Pilz für diese Art. Patouillard war schon 1892 (Bull. de la Soc. mycol. de France. T. VIII. p. 189) geneigt, Phlyctospora und Scleroderma in eine Gattung zu vereinigen, was Ed. Fischer in Natürl. Pflanzenfam. Bd. I. 1**. p. 336 durchgeführt hat, wo er aber Phlyctospora noch als Subgenus von Scleroderma betrachtet.

Verf. beobachtete Phlyctospora mehrfach, so namentlich bei Vahrn in Tirol. Bresadola erklärte diese für Scleroderma cepa Pers. (sensu Hollos), der in Südtirol sehr verbreitet ist, und damit stimmten Exemplare aus der Gegend von Trient, die Bresadola dort gesammelt hatte. Bresadola bezweifelt aber die Artberechtigung des Scleroderma cepa und meint, daß es vielleicht nur jüngeres Scleroderma Bovista sei. Verf. meint, daß Phl. fusca Corda eine Species mixta ist und bald der einen, bald der anderen der vier Scleroderma-Formen zugehört, die er nur für Formen einer Art halten möchte.

Alle haben mit zelliger Hülle versehene Sporen, die von den die

Sporen umspinnenden Hyphen gebildet ist, und die bei jungen oder in der Entwickelung zurückgebliebenen Exemplaren allein deutlich sichtbar ist, später mehr oder minder resorbiert wird, sodaß dann die gebräunten Radialwände der Hüllzellen als Leisten und Stacheln erscheinen.

Kleine, unreife, zurückgebliebene, harte und geschlossene Exemplare dieser vier Scleroderma-Formen hatte Corda als Phlyctospora fusca beschrieben, die mithin zu streichen ist.

P. Magnus (Berlin).

Massalongo, C., Note micologiche. (Malpighia. Vol. XVII. 1903. p. 419—423.)

1) Ueber die Ursache eines frühzeitigen Austrocknens der Blätter von Quercus pubescens. Im ersten Frühling werden die jungen Blätter von Quercus pubescens bei Verona von Gloeosporium nervicolum n. sp. angegriffen. Das Mycel befällt meistens das Gewebe neben den Hauptrippen und stopft allmählich die Leitbahnen. Die Blätter verkräuseln und vertrocknen.

2) Ueber die Anthrachnose der Blätter von Populus tremula. Verf. bezeichnet nicht ganz korrekt als Anthrachnose eine Verkräuselung und Verbräunung der Blätter der Zitterpappeln bei Tregnago (Verona), welche von Cladosporium Asteroma Tuck. verursacht werden soll. Der Pilz wurde von Prof. Saccardo als Napicladium Asteroma bestimmt.

3) Ueber einen Hyphomyceten, der auf dem Thallus von Candelaria vulgaris A. Massal. parasitisch lebt. Auf allen Birnbäumen lebt die Flechte Candelaria vulgaris A. Massal., die aber von Fusarium lichenicolum n. sp. (Diagnose) zerstört wird.

Pantanelli (Rom).

Clements, F. E., Nova Ascomycetum genera speciesque. (Bull. Torr. Bot. Cl. Vol. XXX. p. 83—94.)

Ein sehr wertvoller Beitrag zur Askomycetenflora Nordamerikas. Die Diagnosen der neuen Pflanzen werden ausführlich mitgeteilt. **Neue Genera** sind:

Heteroplegma (est Plicaria hypothecio heteromorpho) mit H. coeruleum (ad terram umbrosam) und H. crenatum (ad terram inter muscos), **Ophiogloea** (ab Holwaya differt forma cupulae excipuloque, ab Agyriopside excipulo, a Bactrospora, Lahmia et Mycobacidia contextu epithecioque, a Gorgonicipite excipulo parenchymatico) mit O. linospora (ad lignum decorticatum putridumque Aceris sp.), **Scytopezis** (est Urnula estipata, excipulo parenchymatico) mit Sc. stellata (ad ramum vetustum in terra muscosa sepultum) und **Psilothecium** (Patinellae affine, sed differt paraphysibus simplicibus, epithecio nullo hymenioque laeticolore) mit Ps. incurvum [ad lignum udum decorticatumque Salicis chlorphyllae]. — **Neue Species** sind: Chaetosphaeria Thalictri (in caulibus Thalictri sparsiflori), Pleosphaeria Lithospermi (in caulibus Lithospermi parviflori), Tichosporium Edwiniae (in ramis Edwiniae americanae), Mycosphaerium lineatum (in caulibus Pedicularis procerae), Phorcys minutus (in foliis vetustis Yuccae glaucae), Metasphaeria Opulastri (in ramulis Opulastri monogynae), Leptosphaeria Castilleiae (in caulibus Castilleiae pallidae), Pleospora Edwiniae (in ramis Edwiniae americanae), Pleospora sepulta (in ramis ignotis vetustis). Stictis Edwiniae (in ramis Edwiniae americanae), Dermatea macrospora (ad lignum Salicis), Helotium marginatum (ad ramos corticatos Salicis), Allophylaria Senecionis (in caulibus emortuis Senecionis blitodis), Dasyscypha incarnata (ad lignum decorticatum Piceae Engelmanii), Dasyscypha rubrifulva (in ramis vetustis ignotis), Neottiopezis macrospora (ad terram inter muscos), Scutellinia chaetoloma (ad lignum udum et ad acus Piceae), Scutellinia dispora, Sc. heterospora (ad lignum muscosum), Sc. irregularis (ad trabes putrescentes Piceae), Sepultaria heterothrix (ad terram foliosam), Macropodia urceolata (in arena aquosa),

Humaria ochroleuca (inter muscos et in glarea ripis udis), Plicaria chlorophysa (ad lignum vetustum), Phleboscyphus (= Acetabula) macropus, olivaceus et radicatus (in terram udam) und Helvella pileata (ad terram et lignum udum).

Warum Verf. für Teichosporella Sacc., Neotiella Cke und Mycosphaerella Johans. die neuen Namen: Tichosporium, Neottiopezis und Mycosphaerium einführt, ist nicht klar, auf jeden Fall aber nicht nachahmenswert.

Matouschek (Reichenberg).

Staritz, R., Beiträge zur Pilzkunde des Herzogtums Anhalt. (Verhandl. d. botan. Vereins d. Prov. Brandenburg. Bd. XLV. 1903. p. 59—96.)

Aufgezählt werden die Ustilagineen, Uredineen, Basidiomyceten und Gasteromyceten. In weiteren Beiträgen sollen die anderen Familien berücksichtigt werden.

Neu beschrieben werden:

Eccilia Henningsii (verwandt mit E. Atrides Lasch und E. griseorubella Lasch) und Entoloma clypeata nov. var. Partheilii.

Matouschek (Reichenberg).

Bubák, Franz und **Kabát, Y. E.**, Dritter Beitrag zur Pilzflora von Tirol. (Oesterreich. botan. Ztg. Jahrg. LIV. Wien 1904. No. 4. p. 134—137. No. 5. p. 181—186.)

Aufarbeitung von Material, das Kabát in Südtirol und H. E. Černý bei Meran gesammelt haben. **Als neu** werden beschrieben:

1) Puccinia dolomitica Kab. et Bub. (eine Micropuccinia auf Blättern von Cerefolium silvestre im Fassa- und Sextentale; von der nächsten Verwandten, Puccinia corvarensis, durch verhältnismäßig längere und breitere, mit dünnerer Membran und sehr flachen Papillen versehene Teleutosporen verschieden; der Keimporus der Basalzelle steigt manchmal bis zur Mitte der Zelle herab); 2) Phyllosticta Arethusae Bub. (an lebenden und absterbenden Blättern von Citrus aurantium in Gesellschaft von Septoria Arethusae Penz. in Meran); 3) Phyllosticta tirolensis Bub. (an lebenden und abfallenden Blättern von Pirus communis in Meran); 4) Ascochyta tirolensis Bub. (auf Blättern von Bryonia dioica bei Meran; von Ascochyta Bryoniae Kab. et Bub. besonders durch die verfärbten Sporen verschieden); 5) Coniothyrium tirolense Bub. (an lebenden Blättern von Pirus communis bei Meran in Gesellschaft von Phyllosticta tirolensis); 6) Marssonia santonensis (Pass.) Bub. [= Septoria didyma Fuckel var. santonensis Pass. in litt.] (auf lebenden Blättern von Salix pentandra (?) in Meran); 7) Monochaetia pachyspora Bub. (auf lebenden Blättern von Quercus Ilex bei Meran; durch die längeren und breiteren Sporen von den verwandten Mon. monochaeta Desm. var. glandicola Trotter und Mon. Saccardoi Speg. verschieden); 8) Ramularia dolomitica Kab. et Bub. von allen auf Geranium vorkommenden Arten verschieden; an Blättern von Geranium phaeum L. auf Bergwiesen bei Alba im Fassatale); 9) Coniosporium hysterinum Bub. (auf alten Bambusa-Halmen im Schlosse Pienzenau bei Meran; von Coniosp. Arundinis Corda durch den äußeren Habitus und durch verhältnismäßig große, dünnwandigere Sporen verschieden); 10) Colletotrichum Pyri Noack 1898 forma tirolense Bub. (an lebenden Blättern von Pirus communis bei Meran). Dieser Pilz war bisher aus Brasilien bekannt. Es empfiehlt sich, für denselben eine neue Gattung aufzustellen: Colletotrichopsis Bubák nov. gen. mit der Gattungsdiagnose: Fruchtlager linsenförmig eingesenkt, von einer Reihe angedrückter, strahlenförmig vom Rande gegen die Mitte verlaufender Borsten bedeckt; Sporen einzellig, hyalin bis schwach rosenrot auf deutlich entwickelten Trägern stehend. Art: Colletotrichopsis Pyri (Noack) Bubák. — Septoria Colchici Pass. ist wahrscheinlich mit Septoria gallica Sacc. et Syd. identisch. — Puccinia corvarensis Bub. wird von einem zweiten Standorte aus Tirol (Sextental) angeführt.

Matouschek (Reichenberg).

Bubák, Franz und **Kabát, J. E.**, Einige neue Imperfekten aus Böhmen und Tirol. (Oesterreich. bot. Zeitschr. Jahrg. LIV. No. 1. Wien 1904. p. 22—31. Mit 10 Textabbildungen.)

Mit ausführlichen deutschen Diagnosen werden folgende neue Gattungen und Arten beschrieben:

Kabatia Bub. nov. gen. Leptostromacearum mit der Art: Kabatia latemarensis Bub. n. sp. (Pykniden halbiert, schildförmig, häutig, schwarz, mündungslos, unregelmäßig aufreißend, von strahligem, dunkelbraunem Gewebe. Sporen stark sichelförmig gekrümmt, hyalin, zweizellig, ungleichseitig, wie die Textabbildungen zeigen; die Art wurde auf lebenden Blättern von Lonicera Xylosteum L. auf Wiesen und in Wäldern unter dem Latemargebirge am Costalungapasse (bei 1650 m) in Südtirol im Juli gefunden und gleicht makroskopisch völlig dem Pilze Leptothyrium Periclymeni [Desm.] Sacc.); Phyllosticta Siphonis Kab. et Bub. (auf absterbenden Blättern von Aristolochia Sipho bei Turnau in Böhmen; von Ascochyta Siphonis Allesch. durch stets oberflächliche und schwarze Pykniden, durch immer einzellige und breitere Konidien ohne Oeltropfen verschieden); Phyllosticta minutissima K. et B. (auf solchen Blättern von Prunus spinosa bei Turnau, durch die Fleckenbildung von Phyllosticta Passerini Berl. et Vogl. verschieden); Phoma Carlieri K. et B. (auf trockenen Hülsen von Cytisus Carlieri in Turnau); Ascochyta vulgaris K. et B. (? Syn. Phyllosticta vulgaris Desmaz.; auf lebenden Blättern von Lonicera Xylosteum L. im Eggental Südtirol; von Asc. tenerrima Sacc. et Roum. durch mehrere Merkmale verschieden); Ascochyta nobilis K. et B. (an absterbenden Blättern von Dictamnus fraxinella Pers. in Turnau); Ascochyta dolomitica K. et B. (an lebenden Blättern von Atragene alpina L., manchmal in Gesellschaft von Puccinia atragenicola [Bub.] Syd. im Fassatal der Dolomiten); Ascochyta Davidiana K. et B. (auf Blättern von Clematis Davidiana Desm. in Turnau; von allen auf Clematis auftretenden Ascochyten durch die eingesenkten Pykniden verschieden); Ascochyta fuscescens K. et B. (auf Blättern von Philadelphus coronarius L. in Turnau; von Ascochyta Philadelphi Sacc. et Speg. durch die Fleckenbildung, kleinere Pykniden und die Form der Sporen verschieden); Ascochyta aromatica K. et B. (auf Blättern von Chaerophyllum aromaticum L. bei Turnau; vielleicht ist diese Art und die Arten A. Podagrariae Bres. und A. Chaerophylli Bres. nur verschiedene Formen einer und derselben Species); Septoria paludosa K. et B. (auf absterbenden Blättern von Phragmitis communis Trin. in Sümpfen bei Hirschberg in Nordböhmen, eine gute Art); Septoria purpureo-cincta K. et Bub. (auf lebenden Blättern von Viscaria vulgaris bei Turnau); Septoria aromatica K. et B. (auf lebenden Blättern von Chaerophyllum aromaticum L. bei Turnau; von Sept. Podagrariae Lasch durch kleinere Flecken und Pykniden und schmälere deutlich septierte Sporen konstant verschieden); Phleospora Platanoidis K. et B. (auf lebenden Blättern von Acer platanoidis L. forma Reitenbachii hort. bei Turnau; Fruchtgehäuse fehlen); Coniothyrium fluviatile K. et B. (an abgestorbenen Zweigspitzen von Myricaria germanica Desv. im Flußkiese des Avisio bei Campitello und im Fassatale); Godroniella vernalis K. et B. (auf Mercurialis perennis bei Turnau, selten); Gloeosporum opacum K. et B. (an abgefallenen Blättern von Acer Pseudoplatanus L. bei Turau, recht selten); Marssonia decolorans K. et B. (an Blättern von Acer Negundo bei Turnau) und Ramularia nivea K. et B. (an lebenden Blättern von Veronica Anagallis L.; von R. Beccabungae Fautr. durch andere Fleckenbildung, nicht gespreizte Fruchtträger und größere Sporen verschieden).

Matouschek (Reichenberg).

Wurth, Th., Beiträge zur Kenntnis der Pilzflora Graubündens. (Jahresbericht der naturforschenden Gesellschaft Graubündens. Neue Folge. Bd. XLVI. Chur 1904. p. 19—28.)

Ustilago Kühniana Wolff. wurde auch auf Rumex nivalis gefunden. Puccinia Cesatii Schroet. wurde im Dezember ohne Teleutosporen gefunden, so daß die Ueberwinterung mit den sehr dickwandigen Uredosporen feststeht. Puccinia punctata Link befiel an einem Orte wohl Galium verum, nicht aber den Begleiter Asperula cynanchica. Für die Schweiz neu: Puccinia Jueliana Diet.

Matouschek (Reichenberg).

Traverso, G. B., Primo elenco di Micromiceti di Valtellina. (Annales Micologici. Vol. I. 1903. p. 297—323. c. 5 fig.)

In dem 157 Arten umfassenden Verzeichnisse befinden sich auch einige neue Arten, nämlich:

Ascochyta Asclepiadearum auf Blättern von Vincetoxicum officinale, Camarosporium polymorphum (De Not.) subsp. Jasmini auf Zweigen von Jasminum officinale, Septoria montana auf Blättern von Gentiana acaulis und Excipulina valtellinensis auf Stengeln von Dianthus Carthusianorum.

H. Sydow (Berlin).

Saccardo, P. A. e **Traverso, G. B.**, Contribuzione alla flora micologica della Sardegna. (Annales Mycologici. Vol. I. 1903. p. 427—444. Taf. IX.)

Die Pilzflora der Insel Sardinien war bisher fast gänzlich unbekannt. Die Verff. führen 167 dort gesammelte Pilze auf, wovon Zignoëlla sardoa auf Thymus-Zweigen, Jattaea Berlesiana auf Zweigen von Cistus salviaefolius, Valsa sardoa auf Zweigen von Olea europaea, Gloniella sardoa auf Holz von Populus alba, Asteromella sphaerospora auf Halmen von Triticum vulgare, Sphaeronaema vermicularioides auf Blättern von Arbutus Unedo, Placosphaeria Brunaudiana auf Umbelliferen-Stengeln, Cytospora cisticola auf Zweigen von Cistus salviaefolius, Diplodina Berlesiana auf Umbelliferen-Stengeln und Ramularia sardoa auf Blättern von Paeonia corallina var. triternata, sowie einige Varietäten und Formen als neu beschrieben werden.

H. Sydow (Berlin).

Bresadola, Ab. J., Mycologia Lusitanica. Diagnoses fungorum novorum. („Broteria". Vol. II. 1903. p. 87—92.)

Aus Lusitanien werden als neue Species beschrieben:

Hyphoscypha n. gen. mit H. virginea n. sp. (ad ligna et truncos vetustos Castaneae vulgaris; a genere Dasyscypha differt deficientia pili genuini in ascomate); Helotium flavo-fuscescens n. sp. (ad corticem Eucalypti globuli); Nectria rosella n. sp. (ad asseres Pini maritimae); Trichosporum fuscidulum n. sp. (ad caules mucidos Brassicae oleraceae); Sphacelia subochracea n. sp. (in Corticio tenui Karst. ad asseres Pini maritimae); Mycena rubidula n. sp. (ad corticem Eucalypti globuli); Cyphella cochlearis n. sp. (ad terram inter muscos minores), Gymnosporangium Oxycedri n. sp. (in ramis Juniperi Oxycedri); Ciboria brunneo-rufea n. sp. (ad folia emortua Pistaciae Lentisci).

Matouschek (Reichenberg).

Saccardo, P. A., Florae mycologicae lusitanicae. contributio duodecima. (Bol. da Soc. Brot. Vol. XIX. Coimbra 1903. p. 16.)

In diesem Beitrag zur Kenntnis der portugiesischen Pilzflora zählt Verf. 128 Species auf, fast nur parasitische Pilze. Die australische Antennaria scoriadea Berk. wurde auf Blättern und Zweigen von Correa ferruginea, die bisher nur aus Cuba bekannte Art Zygosporium oscheoides Mont. auf Blättern von Ficus altissima im botanischen Garten zu Coimbra gefunden. Ferner mögen die neuen Arten resp. Varietäten erwähnt werden:

Phyllosticta Gelsemii Ell. et Ev. var. Mandevilleae auf Blättern von Mandevillea suaveolens; Phoma Sophorae Sacc. form. Gymnocladi auf Blattstielen von Gymnocladus canadensis, Ph. arundinacea (Berk.) Sacc. form. bambusina auf Bambus-Rohr; Macrophoma nobilis (Thüm.) B. et V.

form. Berberidis auf Blättern von Berberis vulgaris, M. ilicella form. Magnoliae auf Blättern von Magnolia grandiflora, M. Ensetes auf Blättern von Musa Ensete; Sphaeropsis Molleriana auf Zweigen von Glycine violacea; Chaetomella atra var. bambusina auf Blättern von Bambus viridi-flavescens; Ascochyta Phytolaccae auf Blättern von Phytolacca decandra, A. ricinella auf Stengeln von Ricinus communis.

Diplodia palmicola Thuem. var. Sabaleos auf Blattstielen von Sabal glaucescens; Hendersonia Donacis form. bambusina auf Bambus-Rohr, H. Magnoliae Sacc. form. Chimonanthi auf Blättern von Chimonanthus fragrans; Septoria Catalpae Sacc. var. folliculorum Sacc. auf den Fruchtkapseln von Asclepias verticillata, S. Lagerstroemiae auf Blättern von Lagerstroemia indica, S. Halleriae auf Blättern von Halleria lucida, S. semicircularis auf Blättern von Evonymus fimbriatus, S. Galiorum Ellis form. Rubiae auf Stengeln von Rubia peregrina; Rhabdospora nigrella form. Acnidae auf Stengeln von Acnida cannabina, Rh. Lebretoniana Sacc. et Roum. form. Solani auf Solanum-Stengeln, Rh. imperialis form. Koelreuteriae auf Blattstielen von Koelreuteria paniculata, Rh. aloetica auf Aloe-Zweigen.

Leptothyrium Magnoliae auf Blättern von Magnolia grandiflora; Gloeosporium Mollerianum Thuem. var. folliculorum auf Fruchtkapseln von Asclepias verticillata; Colletotrichum versicolor auf Stengeln von Bambusa viridi-glaucescens.

In einem Appendix wird noch Phoma Capanemae auf den trockenen Früchten der Palme Arikuryroba Capanema aus Brasilien beschrieben. H. Sydow (Berlin).

Constantineanu, J. C., Contribution à létude de la flore mycologique de la Roumanie. (Annales scient. de l'Univ. de Jassy. T. II. 1903. p. 212—230.)

Verf. zählt die von ihm in einigen Distrikten Rumäniens gesammelten Uredineen auf. Bisher war über die Vertretung dieser Pilzgruppen in Rumänien noch nichts bekannt geworden. Aus der vorliegenden Abhandlung läßt sich ersehen, daß die rumänische Uredineenflora von derjenigen des mittleren Europas keine Verschiedenheiten zeigt. Erwähnenswert sind besonders Uromyces Salsolae Reich., Puccinia singularis P. Magn. und Aecidium Isopyri Schroet.

H. Sydow (Berlin).

McAlpine, D., Australian Fungi, new or unrecorded. Decades III—IV. (Proceedings of the Linnean Soc. of New South Wales. Part. I. 1903. April 29th. p. 94—103.)

Verf. beschreibt folgende in Victoria beobachtete pflanzliche Parasiten als neu:

Amerosporium rhodospermum auf lebenden Blättern von Diuris pedunculata; Ascochyta Anthistiriae auf lebenden Blättern von Anthistiria australis; A. Cryptostemmae auf welkenden Blättern von Cryptostemma calendulaceum; Cercospora Loranthi auf lebenden Blättern von Loranthus pendulus; Coryneum Acaciae auf Phyllodien von Acacia penninervis und A. pycnantha; Cylindrosporium Eucalypti auf lebenden Blättern von Eucalyptus meliodora; Dimerium orbiculatum auf lebenden Blättern von Grevillea victoriae; Gloeosporium Walteri auf lebenden Blättern von Drimys aromatica; Hendersonia grandispora auf Blättern von Eucalyptus spec.; Phoma Romuleae auf Blättern von Romulea Bulbocodium; Ph. Vittadiniae auf trockenen Zweigen von Vittadinia australis; Septoria perforans auf lebenden Blättern von Cryptostemma calendulaceum; S. Thelymitrae auf welkenden Blättern von Thelymitra aristata; Sphaerella Anthistiriae auf lebenden Blättern von Anthistiria australis; Sph. Cassythae auf Zweigen von Cassytha glabella.

Ascochyta Hyacinthi Tassi wurde auch auf Agapanthus umbellatus

beobachtet; Exoascus bullatus auf Pirus communis ist neu für Australien, desgl. Helminthosporium gramineum Rabh. und Septoria Betae West., Urocystis Colchici (Schlecht.) Rabh. wird auf Wurmbea dioica angegeben.

H. Sydow (Berlin).

Hollrung, M., Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten. Unter Mitwirkung von Braun-Hohenheim, Fabricius-München, Küster-Halle, Reuter-Helsingfors und Stift-Wien. Fünfter Band: Das Jahr 1902. 408 p. Berlin (P. Parey) 1904.

Dieser Band des verdienstvollen Jahresberichtes unterscheidet sich von den früheren zunächst dadurch, daß eine Anzahl von Mitarbeitern an seiner Bearbeitung teilgenommen hat. Dabei hat Küster die allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie, Stift die Schädiger der Wurzelfrüchte, Braun die der Obstgewächse und des Weinstockes, Fabricius die der Nutzhölzer übernommen. Reuter hat die nordische Literatur bearbeitet, und der im Titel nicht genannte Mokrschetzki-Simferopol hat Beiträge aus der russischen Literatur geliefert.

Sehr zu begrüßen ist es, daß die allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie durch die Bearbeitung Küsters zum ersten Male in höherem Maße als bisher berücksichtigt, und daß auch der Pflanzenhygiene ein besonderer Abschnitt zugewiesen worden ist.

Diese beiden neuen Abschnitte gliedern sich, wie folgt:

Allgemeine Phytopathologie und pathologische Anatomie.

A. Allgemeine Pathologie. Hierunter bringt Küster alle diejenigen Vorgänge, Formen u. s. w., die für die Pflanze den Ausfall oder die Abschwächung irgend einer Funktion zur Folge haben; er teilt sie ein je nach dem Einflusse, unter dem sie entstanden sind, in 1. durch Einfluß physikalischer Agentien [a) Licht und Dunkelheit, b) Temperatur, c) osmotische Einflüsse, d) Röntgenstrahlen, e) Verwundung]; 2. durch Einfluß chemischer Agentien (Hunger, Kohlensäure, schweflige Säure, Gifte, vorzeitige Bestäubung) entstandene; als 3. Teil führt er an die Wirkung der Parasiten auf die Wirtspflanzen, einschließlich der Infektionsmöglichkeit und Immunität.

B. Pathologische Anatomie. Auf eine allgemeine Einleitung folgt I. die Pathologie der Zelle, und zwar 1) abnormale Lagerungsverhältnisse, und 2) abnormale Strukturverhältnisse, denen ein Anhang: Restitution der Zelle, sich anschließt; II. Pathologie der Gewebe, und zwar 1) unter dem Einflusse physikalischer Agentien, 2) dem Einflusse der Verwundung, 3) dem Einflusse chemischer Agentien, 4) bei der Bildung von Gallen, und 5) aus unbekannten Ursachen.

Der Abschnitt „Pflanzenhygiene" soll in Zukunft umfassen: Die Verschleppung und Verbreitungsweise von Pilzkrankheiten, zweckmäßige Ernährung, Kulturmaßnahmen in ihrer Wirkung auf die Pflanzengesundheit, Einfluß der Witterungsfaktoren auf die Entstehung von Pflanzenerkrankungen, Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse von außen, Immunisierung, Gesetze zur Verhütung von Pflanzenkrankheiten und Aehnliches. Bis jetzt hat dieser Teil im Verhältnis zu seiner Bedeutung einen noch recht bescheidenen Umfang (13 Seiten, einschließlich der Literaturaufzählung), aber darin, daß er überhaupt aufgenommen worden ist, liegt schon ein Fortschritt, und es ist zu hoffen, daß diese Zusammenstellung mithilft, die Bestrebungen,

neben der Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten, die Lehre von der Gesunderhaltung der Pflanzen zur Geltung zu bringen, in weitere Kreise zu tragen.

Die übrigen Teile sind in gewohnter Weise bearbeitet und haben, wie die phytopathologische Literatur selbst, an Umfang zugenommen. Aufgefallen ist es dem Ref., daß die Berichte der Deutschen Kartoffelkulturstation, die z. B. im zweiten Jahrgang benutzt wurden, jetzt fehlen, obgleich sie zahlreiche Mitteilungen über den Schorf und die Fäulnis der Kartoffeln enthalten. Appel (Dahlem).

Cuboni, G., Nuove osservazioni sulla peronospora del frumento (Sclerospora macrospora Sacc.). (Rendiconti d. Accad. d. Lincei. [CCCI.] [5.] Vol. XIII. 1904. p. 545—547.)

Der von Peglion und Traverso eingehend untersuchte falsche Mehltau des Getreides (Sclerospora macrospora Sacc.) unterscheidet sich von allen übrigen Peronosporaceen durch den Mangel von Haustorien und konidientragenden Hyphen. Er pflanzt sich nur durch Oosporen fort, ist also auf das Wasserleben hochgradig angewiesen. In der Tat pflegen nur die vom Tiber überschwemmten Weizenanpflanzungen in der römischen Campagna befallen zu werden. Darum hat man in neuester Zeit den Weizenbau nach den herumliegenden Hügeln versetzt, die einen vollkommen gesunden Weizen liefern. Sogar auf einer Parzelle, die mit Oosporen des Parasiten reichlich infiziert worden war, blieb der Weizen bei ausbleibender Ueberschwemmung absolut pilzfrei. Pantanelli (Rom).

d'Ippolito, G., Ulteriori considerazioni e ricerche sul frumento puntato. (Staz. sperim. agrarie. Vol. XXXVII. 1904. p. 663—672.)

Im Anschluß an seine früheren Untersuchungen kommt Verf. zu dem Ergebnis, daß die Ursache der sogenannten Befleckung (puntatura) der Weizensamen, insbesondere beim hochgeschätzten Rietiweizen, dem Cladosporium herbarum zuzuschreiben ist, welches sein Mycel in den Hautgeweben und um den Embryo überwintert. Der genannte Pilz richtet übrigens keinen Schaden an, denn weder Keimkraft noch Zusammensetzung des Weizenkornes werden dadurch verändert.

Pantanelli (Rom).

Peglion, V., Il brusone del riso. (Italia Agricola. Bd. XLI. 1904. p. 13—15.)

Verf. bemerkt gegen Ferraris (1903), welcher den „brusone“ (Brand) des Reises der vorhandenen Piricularia Oryzae zugeschrieben hatte, daß dieser Pilz die Ursache der verheerenden Krankheit nicht sein kann, weil er nur die oberirdischen Teile bewohnt, während der „brusone“ mit der Zerstörung der Rinde in den jüngsten Wurzelfasern anfängt. Verf. sieht dagegen die Ursache in einem von ihm aus kranken Reiswurzeln isolierten Bakterium. Die Frage ist also noch offen.

Pantanelli (Rom).

Oudemans, C. A. J. A., Exosporina Laricis Oud. a new microscopic fungus occurring on the Larch and very injurious to this tree. (Proceedings Koninkl. Akad. van Wetensch. te Amsterdam. 1904. p. 498—501. Mit 1 Taf.)

Beschreibung eines als Exosporina Laricis nov. gen. et spec. in die Systematik eingeführten neuen Pilzes, der zu den Tuberculariaceen gehört und auf den Nadeln junger, verfärbter Larix-Schößlinge in Holland kleine, schwarze, oberflächlich aufsitzende Sporodochien bildet. Die rostbraunen Konidien entstehen in Ketten, sie sind fast kugelrund, einzellig und messen ca. 5—6 μ im Durchmesser. Der Pilz schädigt die Nährpflanze sehr. H. Sydow (Berlin).

Farneti, R., Le volatiche e l'atrofia dei frutti del fico. (Abdruck aus Atti d. Istituto Botanico in Pavia. [2.] Vol. VIII. 1903. 5 p. Mit 1 Taf.)

Es handelt sich um zwei Krankheiten, welche im letzten Jahre sowohl die weißen wie die schwarzen Feigen bei Pavia heimgesucht haben.

Die Atrophie derselben kommt dadurch zu stande, daß die Sporen von Alternaria Fici n. sp. die Cuticula der jungen Früchte durchbohren und, offenbar durch Ausscheidung von Toxinen, schon vor der Keimung das Wachstum des unterliegenden Parenchyms hemmen; die Feigen verkrüppeln und nehmen seltsame Formen an. Beim Ausreifen wird die Epidermis weicher und sofort entwickelt sich das Mycel und tötet die Parenchymzellen, ohne allerdings ihren Zusammenhang zu lockern. Die neue Alternaria besitzt 2—3mal septierte, auf Torula-ähnlichen Zellgruppen sitzende Konidienträger; die Konidien sind länger als bei A. tenuis.

Die Maserkrankheit (volatiche) der Feigen wird von Cladosporium sicophilum n. sp. verursacht. Die Sporen dieses Pilzes dringen in die junge Cuticula ein und bringen die unterliegenden Zellen irgendwie zum Absterben. Der erkrankte Teil wird inwendig von einem Schutzkork abgegrenzt. Es entstehen braune Flecke unter schuppenweisem Abtöten der Fruchtschale. Der Parasit trägt auf toruloiden Zellgruppen sitzende, aufsteigende oder geknickte Konidienträger. Pantanelli (Modena).

Farneti, R. e **Pollacci, G.**, Di un nuovo mezzo di diffusione della Fillossera per larve ibernanti in galle di speciale conformazione. (Atti d. Istituto Botanico di Pavia. (2). Vol. X. 1904. 8 p. mit 1 Taf.)

Bei Mailand fand man auf Rebenblättern (Clinton) von Phylloxera bewohnte, mit einer weiten unteren Oeffnung versehene Gallen. Die obere Oeffnung erscheint so eng und mit Haaren verschlossen, daß die Tierchen nicht ausschlüpfen könnten, wenn sie die untere Wand der Galle nicht abnagten. Trotzdem bleiben mehrere Gallen geschlossen und innerhalb derselben findet man Larven in überwinterndem Zustande, nebst einigen gewöhnlichen Larven des zweiten und dritten Wechsels. Die Reblaus dieser im Herbst gesammelten Gallen erscheint ungefähr die Hälfte so groß, wie die gewöhnliche gallenbildende Form; ihre braunrote Farbe erinnert vielmehr an die unterirdische als an die oberirdische Reblaus. Es ist durchaus notwendig, solche Blätter zu zerstören, denn sie stellen das gefährliche Verbreitungsmittel der Reblaus durch den Wind dar. Pantanelli (Rom).

Trotter, A., A proposito di una recente pubblicazione su la fillossera gallicola. (Giornale di Viticultura ed Enologia. Vol. XIII. 1904. p. 313.)

Zur obenstehenden Mitteilung von Farneti und Pollacci bemerkt Verf., daß die Behaarung der oberen Oeffnung der Reblausgallen schon bekannt und von einigen Autoren abgebildet worden ist. Solche Haare können dem Ausschlüpfen der Insekten kein ernstes Hindernis bilden und Trotter möchte die Korrosionserscheinungen der unteren Gallenwand lieber irgend einem gallen- oder larvenfressenden Insekt als der Reblaus selbst zuschreiben. Auch in Bezug auf das Aussehen der nicht ausgeschlüpften Larven betont er, daß es schon lange bekannt ist, daß die im Herbst in Gallen noch weilenden Larven dasselbe Aussehen der auf Rebenwurzeln überwinternden Formen annehmen, bestreitet aber entschieden, daß solche Larven in den Gallen überwintern können.

Pantanelli (Rom).

Mariani, D., Danni prodotti da la Lytta vesicatoria ai fiori d'olivo. (Staz. sperim. agrarie. Vol. XXXVII. 1904. p. 483—488.)

Die spanischen Fliegen nagen die Stiele der noch geschlossenen Oelbaumblüten an und veranlassen dadurch das Abfallen der Blüten resp. ganzer Blütenstände. Von einem Oelbaum mit 16 cm Stammdurchmesser wurden auf dieser Weise in 24 Stunden ca. 5000 Blüten (50 g) abgefressen. Da das Insekt auch die jüngsten Blätter und Zweigspitzen frißt, so kann bei jeder Pflanze ein Verlust um ca. 500 g Oel innerhalb 24 Stunden angerichtet werden. Es wird empfohlen, die schädlichen Insekten vor Sonnenaufgang oder nach Sonnenuntergang durch Abklopfen auf einem Tuche zu sammeln und mit Essigdampf zu töten.

Pantanelli (Rom).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

De Rossi, Gino, Circa il computo delle colonie in rapporto con la durata del periodo di incubazione nell'esame bacteriologico dell'acqua. (Riv. d'Igiene e de Sanità pubbl. 1905.)

Verf. hat sich mit einer ziemlich schwierigen und wichtigen Besonderheit der bakteriologischen Prüfung des Wassers abgegeben, nämlich mit der Bewertung der Anzahl der auf Gelatineplatten entwickelten Kolonieen, je nachdem diese eine mehr oder weniger lange Zeit in Beobachtung gelassen wurden. Während es nun bekanntermaßen vorkommt, daß man auch nach 12—13-tägigem Verbleiben in einer Temperatur von 18—20° das Auftreten einiger neueren Kolonieen beobachten kann, so tritt sehr häufig auch der Fall ein, daß trotz aller Vorsichtsmaßregeln, die darauf gerichtet sind, die Entwickelung verflüssigender Keime, d. h. der Schimmelpilze und anderer eindringender Kolonieen hintanzuhalten, die Platten also nicht länger als 3—4 Tage nach der Einsaat dienen können, ein Zeitraum somit, der gar nicht ausreicht, um uns eine auch nur annähernde Angabe zu liefern über die Anzahl der Bakterien des Wassers, die im stande sind, die Bildung von Kolonieen

in der Gelatine hervorrufen zu können. An der Hand seiner ziemlich zahlreichen Untersuchungen hat er eine Tabelle hergestellt, die angibt, wie viele Kolonieen den Zählungen der verschiedenen Tage einverleibt werden müssen, um stets untereinander vergleichbare Angaben zu erhalten, wie folgt:

Zahl der Kolonieen, die den Zählungen der ersten 15 Tage hinzugefügt werden müssen:

Nach										
Nach	1 Tag	Wachstum	müssen	hinzugefügt	werden	99	Kolonieen	pro	100
"	2 Tagen	"	"	"	"	85	"	"	100
"	3 "	"	"	"	"	76	"	"	100
"	4 "	"	"	"	"	65	"	"	100
"	5 "	"	"	"	"	53	"	"	100
"	6 "	"	"	"	"	40	"	"	100
"	7 "	"	"	"	"	30	"	"	100
"	8 "	"	"	"	"	21	"	"	100
"	9 "	"	"	"	"	14	"	"	100
"	10 "	"	"	"	"	9	"	"	100
"	11 "	"	"	"	"	4	"	"	100
"	12 "	"	"	"	"	3	"	"	100
"	13 "	"	"	"	"	2	"	"	100
"	14 "	"	"	"	"	0	"	"	100
"	15 "	"	"	"	"	0	"	"	100

Verf. mißt diesen Zahlen keinen absoluten Wert bei, hält sie aber immerhin für orientierende Werte, die dazu dienen, Keime von Fall zu Fall für die Bedeutung der Kolonieenzählung besser zu würdigen als einen jener Koeffizienten, die bei Beurteilung der Resultate der bakteriologischen Prüfung nicht zu übersehen sind. Bertarelli (Turin).

Gabutti, E., Su la ricerca dell' abrastolo nei vini. (Staz. sperim. agr. Vol. XXXVII. 1904. p. 334—236.)

Zum Nachweis des Abrastols empfiehlt Verf., 100 ccm Wein mit einigen Tropfen NH_3 vorsichtig alkalisch zu machen, dann mit 10—15 ccm Amylalkohol im Scheidetrichter zu schütteln, den Amylalkohol in eine Porzellanschale auszugießen und auf dem Wasserbade zu verdampfen. Der Rückstand wird mit einigen Tropfen syrupdicker Phosphorsäure erwärmt, dann mit 1—2 Tropfen konzentrierter Formaldehydlösung versetzt, wieder erwärmt und filtriert. Schon bei einem Gehalt von 0,1 g im Liter Wein zeigt eine grüne Fluoreszenz die Anwesenheit von Abrastol. Pantanelli (Rom).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Bordas, F., De la stérilisation du liège. (Compt. rend. de l'Académie des sciences. T. CXXXVIII. p. 1287.)

Die Ursache des Stopfengeschmackes mancher Flüssigkeiten rührt davon her, daß in den Korken, mit welchen die Flaschen verschlossen waren, das Mycel gewisser Schimmelpilze wuchert. Zuweilen kann dieses Pilzwachstum schon mit bloßem Auge an dem Korke beobachtet werden, weit häufiger aber haben die Stopfen ein ganz gesundes Aussehen. In diesem Fall befindet sich das Mycel ganz im Inneren. Die Gegenwart einiger Sporen scheint schon zu genügen, um bei günstigen Entwicke-

lungsbedingungen ein Durchwuchern des ganzen Korkes zu veranlassen. Die bei der Bearbeitung und Bleichung üblichen Methoden, wie Kochen bei Gegenwart von Hypochlorid, von Chlor oder schwefliger Säure genügen nicht, um die Pilze im Korke abzutöten. Dies gelingt indessen, wenn die Korke in einem geschlossenen Gefäß 10 Minuten lang auf 120° erhitzt werden, dann in dem Gefäß Luftleere erzeugt und endlich der Druck wiederhergestellt wird, indem man Wasserdampf eintreten läßt, der dann noch während 10 Minuten auf 130° überhitzt wird. So behandelte Korke sind immer steril. Koeppen (Danzig).

Bellet, E., Appareil électrolyseur de l'eau de mer pour la désinfection des poulaines. (Archives de médecine navale. T. LXXXI. 1904. p. 5—12, avec 2 fig.)

Dieser Apparat, dessen Konstruktion und Funktionieren eingehend erklärt und durch zwei Schemata dargestellt werden, zersetzt das Meerwasser durch elektrischen Strom. Die dadurch erhaltenen Flüssigkeiten und Gase sind reich an Chlor und erlauben sowohl die Vertreibung des übeln Geruchs als auch die rasche Desinfizierung von Lokalen.

Langeron (Paris).

Herzfeld, A., Versuche über die Wirkung des Kalkes bei der Abwässerreinigung mit und ohne Vergärung. (Zeitschrift des Vereins der deutschen Zuckerindustrie. 589. Lieferung. Februar 1905.)

Die Untersuchung des Proskowetz-Verfahrens zur Reinigung der Zuckerfabrikabwässer — welches bekanntlich darauf beruht, daß das Wasser (ursprünglich nach vorangegangener Kalkklärung) über ein sogenanntes primäres Rieselfeld geleitet wird, und daß dann das Drainwasser von diesem Felde gekalkt und einer nochmaligen Erdfiltration unterzogen wird — wurde bereits 1903 begonnen. Verschiedene Umstände schoben den Abschluß hinaus, so daß erst jetzt die folgenden Resultate vorliegen.

In 3 Versuchsreihen ergibt sich, daß die Gärung durch Zusatz von kohlensaurem Kalk bedeutend in ihrer Intensität gesteigert wurde. Es erhellt ferner, daß überall durch eine Kalkklärung des vergorenen Wassers eine erhebliche Reinigung eintrat, und nicht nur das Aussehen des Wassers verschönt wurde.

Alles in allem ermutigen die Versuche, auf dem neuen Wege der Abwässerreinigung fortzufahren, und vor allem danach zu streben, die äußeren Verhältnisse so zu gestalten, daß die Abwässer vor der Kalkklärung möglichst lange auf einer hohen, die Gärung begünstigenden Temperatur gehalten werden. Besonders ist weiter die bei der Gärung gebildete Säure sofort zu neutralisieren, indem man der Flüssigkeit vor oder während der Gärung im Ueberschuß kohlensauren Kalk in Pulverform als Kreide oder Scheidekalk zusetzt.

Paul Ehrenberg (Breslau).

Garrigou, F., Le sulfure de calcium contre la cuscute et autres parasites nuisibles à l'agriculture. (Compt. rend. de l'Acad. d. scienc. T. CXXXVIII. p. 1549.)

Verf. wendete mit gutem Erfolg Schwefelcalcium gegen verschiedene Parasiten an, die sich auf Gemüse-, Futter- und Zierpflanzen entwickelt hatten. So gelang die Vernichtung kleiner mikroskopischer Insekten

auf Bohnen- und Erbsenpflanzen. Sehr gut war auch der Erfolg gegen die auf Luzernenfeldern so häufige Kleeseide, die in 2 Tagen vollständig zum Verschwinden gebracht werden konnte. Auch gegen die auf Rosenknospen so häufigen Blattläuse erwies sich das Mittel wirksam. Zur Erzielung eines sicheren Erfolges muß das Schwefelcalcium bei feuchtem Wetter aufgestäubt oder vorher schwach angefeuchtet werden.

Koeppen (Danzig).

Hiltner, L., Bericht über die im Frühjahr 1904 im Benehmen mit der k. Agrikulturbotanischen Anstalt in Bayern durchgeführten Hederichbekämpfungsversuche. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. III. 1905. Heft 1—3.)

Veranlaßt durch das von mehreren Seiten eingelangte Ersuchen, beim Ankauf von Hederichbekämpfungsmaschinen vermittelnd zu wirken und das Bestreben einer allgemeinen Durchführung der Bekämpfung durch Gewährung von Zuschüssen zu unterstützen, stellte sich obgenanntes Institut die Aufgabe, den Kampf gegen den Hederich in ganz Bayern umsomehr zu organisieren und zu unterstützen, da die Plage vielfach erschreckende Dimensionen angenommen hatte, dabei jedoch nur in vereinzelten Fällen dagegen richtig vorgegangen wurde. Im abgelaufenen Jahre wurden die Landwirte mit dem zweckentsprechenden Verfahren der Beseitigung mittels Anwendung der Eisenvitriollösung vertraut gemacht, weiterhin werden jedoch bei vergleichenden Versuchen auch andere Bekämpfungsmittel berücksichtigt. Die den einzelnen Landwirten zur Verfügung gestellten Spritzen wurden von den Firmen Gebrüder Holder (Metzingen), Gustav Drescher (Halle) und H. Kähler (Güstrow) bezogen. Das Gesamtergebnis der auf mehreren Orten ausgeführten Bekämpfungsversuche kann im allgemeinen als recht günstig bezeichnet werden und wurden besonders gute Erfolge mit den fahrbaren Spritzen erzielt. Der eigentliche Hederich (Raphanus Raphanistrum) scheint gegen die Bespritzung widerstandsfähiger zu sein als der vielfach ebenfalls als Hederich bezeichnete Ackersenf (Sinapis arvensis); allgemein können jedoch die Beobachtungen nicht Gültigkeit besitzen. Aus weiteren Berichten geht hervor, daß der Ackersenf mit dem Kalkgehalt des Bodens zu- und abnehme, und es z. B. auf strengem Keupertonboden und da, wo der Muschelkalk sich in den Keuper hineinzieht, mehr Ackersenf gebe als auf Sandböden, wo weder Ackersenf noch Hederich zu finden wäre. Es wird auch bemerkt, daß gerade jene Aecker, die mit Thomasmehl bestreut wurden, vom Ackersenf viel leiden. Die vermuteten Beziehungen zwischen Bodenart und Widerstandsfähigkeit sollen in Zukunft festgestellt werden. Außer gegen die beiden Hedericharten hat sich die Eisenvitriollösung auch gegen die Distel, den Huflattich und das Flohkraut als nützlich erwiesen. Als interessant wird auch die Tatsache bezeichnet, daß die Eisenvitriollösung vielfach auch auf das Wachstum, namentlich des bespritzten Getreides, einen günstigen Einfluß ausübt, welcher sich besonders in stärkerem Wachstum äußern soll. Verf. stellt auch die Bitte, es möge in diesem Jahre auf das Auftreten von Rost, Brand und anderen Krankheiten an bespritzten und nicht bespritzten Getreidepflanzen geachtet und unter Uebersendung von Material darüber berichtet werden. Pósch (Grinád).

Corrigendum.

In Bd. XIV. Abt. II. p. 160 (Inhalt) ist zu lesen Zikes, Der derzeitige Stand der Biersarcinafrage, p. 138.

In Bd. XIV. Abt. II. p. 244 Referat Wichmann, 5. Zeile von oben ist zu lesen „Hansen“ statt Hamen.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,
Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines.

Bos, J. Ritzema, Zoologie für Landwirte. 4. verbess. Aufl. Berlin 1905. VIII, 240 S. 8°. 202 Fig. 2,50 M.

Busse, W., Reisebericht der pflanzenpathologischen Expedition des Kolonial-Wirtschaftlichen Komitees nach Westafrika. (Tropenpflanzer. Jg. IX. 1905. N. 1. p. 25—37.)

Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten. Hrsg. v. M. Hollrung. Bd. VI. Das Jahr 1903. Berlin (Parey) 1905. VIII, 374 p. 8°. 15 M.

Kelhofer, W., Leitfaden für das chemische Praktikum an landwirtschaftlichen Schulen, mit spezieller Berücksichtigung der Obst-, Wein- und Gartenbauschulen. Aarau 1905. III, 72 p. 8°. 1 Tab. u. 15 Fig. 1,50 M.

Kleinschmidt, Ueber die Entstehung der Pflanzen- und Tierkrankheiten. Vortrag. [Forts.] (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Schlesien. Jg. IX. 1905. Heft 5. p. 151—152; Heft 4. p. 114—119.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Biedert, Ueber die Biedertsche (Mühlhäuser-Czaplewskische) Methode zum Auffinden vereinzelter Tuberkelbacillen. (Hyg. Rundsch. Jg. XV. 1905. N. 5. p. 241—243.)

Dschunkowsky, E. und **Luhs, S.**, Apparat zum sterilen Blutentnehmen zwecks Untersuchungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 3. p. 367—368. 1 Fig.)

Duncker, H. C. J., Ein neues Hilfsmittel für Trichinenschauer. (Berlin. tierärztl. Wchnschr. Jg. 1905. N. 2. p. 28—29. 1 Fig.)

—, Ein neues Hilfsmittel für Trichinenschauer. (Rundsch. a. d. Geb. d. Fleischbeschau. Jg. 1905. N. 6. p. 118—119. 1 Fig.)

Gaidukov, N., Der Kampf ums Dasein und die Mixtkulturen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 6/7. p. 206—208.)

Guilloz, Th., Détermination de la grandeur réelle des objets dans les photomicrographies. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 7. p. 343—344.)

Kohler, W., Ueber Methoden zur Sterilisation von Erdboden und Pflanzensamen und über zwei neue thermoresistente Bakterien. Königsberg 1904. 54 p. 1 Taf. 8°. 2 M.

Musgrave, W. E. and **Clegg, Moses T.**, Amebas: their cultivation and etiologic significance. (Bureau of govern. labor., Biologic. laborat. N. 18. Manila 1904. P. 1. 85 p. 32 Fig.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Billet, A., Aire de dispersion de l'Anopheles Chaudoyei Theob. en Algérie et en Tunisie. (Compt. rend. soc. biob. T. LVIII. 1905. N. 8. p. 380—382.)

Bourquin, J., Contribution à l'etude des Cestodes de Mammifères. Le genre Bertia. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1905. N. 11. p. 417—419.)

Bruini, G., Ueber die termophile Mikrobenflora des menschlichen Darmkanals. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 3. p. 298—305. 15 Fig.)

Cockerell, T. D. A., A Table to facilitate the Determination of the Mexican Scale-Insects of the genus Aspidiotus (sens. latiss.). (American Natural. Vol. XXXIX. 1905. N. 457. p. 45—46.)

Crimp, G. Lydston, The relative position of Schistosoma Cattoi and „Bilharzia“ as regards pathogeny. (Journ. of trop. med. Vol. VIII. 1905. N. 5. p. 67—68. 1 Fig.)

Dietel, P., Uredineae japonicae V. (Botan. Jahrb. f. Syst., Pflanzengesch. u. -geogr. Bd. XXXIV. 1905. Heft 4. p. 583—592.)

Falck, R., Die Sporenverbreitung bei den Basidiomyceten und der biologische Wert der Basidie. (Beitr. z. Biol. d. Pflanz. Bd. IX. 1904. Heft 1. p. 1—82. 6 Taf.) 7 M.

Favette, J. et **Trouessart, E.**, Monographie du genre Protolichus (Trt.) et revision des Sarcoptides plumicoles (Analgesinae) qui vivent sur les Perroquets. (Mém. de la soc. Zool. de France. Année 1904. Partie 1. p. 120—128. 11 Taf. u. 2 Fig.)

Ferraris, Teodoro, Enumerazione dei funghi della Valsesia. (Serie terza.) (Malpighia. Anno XVIII. 1904. Fasc. 10/12. p. 482—503. 1 Taf.)

Galli-Valerio, Bruno, Einige Parasiten von Arvicola nivalis. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1905. N. 14/15. p. 519—522.)

Giovanoli, Pflanzliche Hautschmarotzer des Rindes. (Schweizer landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 7. p. 113—115. 1 Fig.)

Guilliermond, A., Sur le nombre des chromosomes chez les ascomycètes. (Compt. rend. Soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 6. p. 273—275.)

Harris, Norman Mac Leod, Bacillus mortiferus (nov. spec.). (Journ. of exper. med. Vol. VI. 1905. N. 4/6. p. 519—547. 3 Taf.)

van Hest, J. J., Gibt es wirklich große Vakuolen in den Hefezellen, oder sind diese eine optische Täuschung? [Vorl. Mitt.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 8. p. 105.)

Katayama, T., On the general occurrence of Bacillus methylicus II. (Bull. of the Coll. of Agric. Tokyo Imp. Univ. Vol. VI. 1904. N. 2. p. 191—193.)

Katsurata, F., Schistosomum japonicum, ein neuer menschlicher Parasit. (Annotat. Zool. Japon. Vol. V. 1904. P. 3. 1 Taf.)

Klöcker, Albert, Eine neue Hefeart Saccharomyces Saturnus Klöcker. (Ztschr. f. Spiritus-ind. Jg. XXVIII. 1905. N. 10. p. 103. [Compt. rend. des travaux de Carlsberg. Bd. VI. Heft 2.])

Laveran, A., Note pour servir à l'histoire des Trypanosomes du Soudan Anglo-égyptien. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 7. p. 292—294.)

Lindner, Bemerkungen zu der vorläufigen Mitteilung von J. J. van Hest: Gibt es wirklich große Vakuolen in den Hefezellen, oder sind diese eine optische Täuschung (in N. 8 der Wochenschr. f. Br.). (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 9. p. 123.)

Metcalf, H., Cultures studies of a Nematode (Rhabditis brevispina) associated with plant Decay. (Studies Zool. Labor. Univ. Lincoln. Nebr. 1903. 14 p. 8°. 1 Taf. 1,50 M.

Musgrave, W. E. and **Clegg, M. T.**, Amebas, their cultivation and etiologic significance. Treatment of intestinal Amebiasis (Amebic Dysentery) in the Tropics. Manila 1904. 117 p. 8°. 16 Taf. 5 M.

Neide, E., Botanische Beschreibung einiger sporenbildender Bakterien. Marburg 1904. 76 p. 8°. 2,50 M.

Ransom, Brayton H., An account of the Tapeworms of the genus Hymenolepis parasitic of man. Including reports of several new cases of the Dwarf Tapeworm (H. nana) in the United States Hygienic Laborat. Bull. N. 18. 1904. 138 p.

Rommel, Gibt es Vakuolen? (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 9. p. 123—124.)

Sawamura, S., On the microbes of the Nukamiso. (Bull. of the Coll. of Agric. Tokyo Imp. Univ. Vol. VI. 1904. N. 2. p. 83—88.)

Speiser, P., Eine zweite Rattenlaus aus Abessinien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 3. p. 318—319. 1 Fig.)

Stebbins, James, On the occurrence of a large sized parasite of the Karyolysus order, in the blood of Rana clamata. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 3. p. 315—319. 2 Taf.)

Stiles, Ch. Wardell, Illustrated Key to the Trematode Parasites of Man. Hygienic Laborat. Bull. N. 17. 1904. 55 p. 8°. 88 Fig.

Szymański, Miecislau, Ein Beitrag zur Helminthologie (Hymenolepis podicipina n. g.). (Bull. internat. de l'Acad. des sc. de Cracovie. Math.-nat. Kl. 1904. N. 10. ersch. 1905. p. 733—734. 1 Taf.

Thiroux, Recherches morphologiques et expérimentales sur Trypanosoma paddae (Laveran et Mesnil). (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 2. p. 65—83. 1 Taf. u. 15 Fig.)

Thor, Sig., Eine interessante neue Milbengattung aus der schweizerischen Sammlung des Herrn Dr. W. Volz. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1905. N. 14/15. p. 505—509. 7 Fig.)

Tiraboschi, Carlo, Sopra alcuni Ifomiceti del mais guasto di regioni pellagrose. Ann. di Botanica. Vol. II. 1905. Fasc. 1. p. 137—168. 1 Taf.)

Tissier, Henry, Répartition des microbes dans l'intestin du nourrison. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 2. p. 109—123.)

Vassal, J. J., Sur un hématozoaire endoglobulaire pigmenté d'un écureuil de l'Annam. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 8. p. 350—351.)

Wheeler, W. M., New Myzostoma parasitic in a Starfish. (Biol. Bull. of the Marine Biol. Laborat. Woods Hall, Mass. Vol. VIII. 1905. N. 2.)

Wize, Casimir, Die durch Pilze hervorgerufenen Krankheiten des Rübenrüsselkäfers

(Cleonus punctiventris Germ.), mit besonderer Berücksichtigung neuer Arten). (Bull. internat. de l'Acad. des sc. de Cracovie. Math.-nat. Kl. 1904. N. 10, ersch. 1905. p. 713—727. 1 Taf. u. 11 Fig.)

Ziemann, Hans, Beitrag zur Trypanosomenfrage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 3. p. 307—314.)

—, Beitrag zur Verbreitung der blutsaugenden Tiere in Westafrika. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. IX. 1905. Heft 3. p. 114—119.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc).

Albrecht, August, Ueber die Beteiligung von Hefen und Bakterien an der Säurebildung im Teige. Diss. med. Würzburg, 1905. 8°.

Bassu, E., Sul fenomeno dell' anaerobiosi. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 2. p. 72—84.)

Buchner, Eduard und **Meisenheimer**, Ueber die chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gärung. (Ber. d. Dtschen chem. Ges. Jg. XXXVIII. 1905. p. 620.)

Dop, Paul, Sur la biologie des Saprolegniées. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 7. p. 454—455.)

Fermi, Claudio und **Bassu, E.**, Weitere Untersuchungen über Anaërobiose. 2. Mitt. [Forts.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 3. p. 241—248. 13 Fig.)

Gerlach und **Vogel**, Ammoniakstickstoff als Pflanzennährstoff. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1905. N. 3/4. p. 124—128. 2 Fig.)

Gruber, Th., Ein weiterer Beitrag zur Aromabildung speziell zur Bildung des Erdbeergeruches in der Gruppe „Pseudomonas". Pseudomonas Fragariae 2. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 3/4. p. 122—123.)

Heinze, Berthold, Einige Berichtigungen und weitere Mitteilungen zu der Abhandlung: Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 3/4. p. 75—87.)

—, Einige Berichtigungen und weitere Mitteilungen zu der Abhandlung: Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 6/7. p. 168—183.)

Katayama, T., Physiological observations on Bacillus methylicus. (Bull. of the Coll. of Agric. Tokyo Imp. Univ. Vol. VI. 1904. N. 2. p. 185—189.)

Kayser, E., Contribution à l'étude de la fermentation lactique. (2e mémoire: Ann. Inst. Nat. Agronom. Sér. 2. T. III. 1904. p. 241—276; 3e mémoire: Ann. Brasserie et Distillerie. T. VIII. 1905. p. 5—7.)

Löhnis, F., Ueber die Zersetzung des Kalkstickstoffs. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 3/4. p. 87—101.)

Lutz, E., Les Microorganismes fixateurs d'azote (morphologie et biologie). Paris 1904. 193 p. 8°. Mit Fig.

Neumann-Wender, Die reduzierenden Enzyme und ihre Beziehungen zur alkoholischen Gärung. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII, 1905. N. 9. p. 91—94. u. Oesterr. Brennerei-Ztg. 1905. N. 4.)

Schander, Bericht über die Tätigkeit der Hefereinzucht-Station Geisenheim a. R. aus Wortmanns Bericht der Königl. Lehranstalt zu Geisenheim 1903. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 5. p. 135.)

Schander, Richard, Ueber Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe. (Jahresber. d. Vereinig. d. Vertreter d. angew. Bot. Jg. II. 1903/04, ersch. 1905. p. 85—121.)

Stoklasa, J. und **Vítek, E.**, Beiträge zur Erkenntnis des Einflusses verschiedener Kohlenhydrate und organischer Säuren auf die Metamorphose des Nitrats durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 3/4. p. 102—118; N. 6/7. p. 183—205.)

Tarozzi, Giulio, Sulla biologia di alcuni germi anaerobici e su di un facile mezzo di cultura dei medesimi. (Riforma med. Anno XXI. 1905. N. 6. p. 146—150.)

Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. IV. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 5. p. 129—135.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Billard, G. et **Bruyant, Ch.**, Sur le rôle des algues dans l'épuration des eaux. (Compt. rend soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 7. p. 302—304.)

Ercklentz, W., Das Verhalten Kranker gegenüber verunreinigter Wohnungsluft. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLIX. 1905. Heft 3. p. 433—446.)

Fabricius, Otto und **von Feilitzen, Hjalmar**, Ueber den Gehalt an Bakterien in jungfräulichem und kultiviertem Hochmoorboden auf dem Versuchsfelde des Schwedischen

Moorkulturvereins bei Flahult. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 6/7. p. 161—168.)

Flügge, C., Ueber Luftverunreinigung, Wärmestauung und Lüftung in geschlossenen Räumen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLIX. 1905. Heft 3. p. 363—387.)

Gautié, Albert, Sur la détermination quantitative du colibacille dans les eaux d'alimentation. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 2. p. 124—127.)

Gérard, Léon, L'épuration des eaux alimentaires par les procédés électriques. (Journ. de la soc. centr. d'Agric. de Belgique. T. LII. 1905. N. 3. p. 87—96.)

Heim, L., Der Reinlichkeitszustand künstlicher und natürlicher Mineralwässer. (Hyg. Rundsch. Jg. XV. 1905. N. 4. p. 169—174.)

Heymann, Bruno, Ueber den Einfluß wieder eingeatmeter Exspirationsluft auf die Kohlensäure-Abgabe. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLIX. 1905. Heft 3. p. 388—404.)

Paul, L., Die Wirkungen der Luft bewohnter Räume. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLIX. 1905. Heft 3. p. 404—432.)

Rothe, W., Untersuchungen über das Verhalten einiger Mikroorganismen des Bodens zu Ammoniumsulfat und Natriumnitrat. Königsberg 1904. 45 p. 8°. 1 Tabelle.

Tonello, Antonio, Depurazione dell' acqua col Tachiolo Paternò. (Giorn. d. R. soc. Ital. d'igiene. Anno XXVII. 1905. N. 2. p. 60—66.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Price, T. M., The effect of some food preservatives on the action of digestive enzymes. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 3/4. p. 65—75.)

Gemüsekonserven und deren Schädlinge. (Konserven-Ztg. Jg. 1905. N. 10. p. 105—106.)

Vivaldi, M. und **Rodella, A.**, Die Austerninfektionen. (Hyg. Rundsch. Jg. XV. 1905. N. 4. p. 174—185.)

Fleisch.

Clausen, Grundriß der Trichinenschau. Leitfaden für den Unterricht in der Ausbildung der Trichinenschauer, nebst der preuß. gesetzl. Bestimmung. Berlin (Schoetz) 1905. 55 p. 8°. 1 M.

Fritze, Die Differential-Diagnose der Tuberkulose in der ambulatorischen Fleischbeschau. (Rundsch. a. d. Geb. d. Fleischbeschau. Jg. 1905. N. 6. p. 113—115.)

Stoll, A., Mitteilung über 7 Fälle von Fischvergiftung an der medizinischen Poliklinik Zürich. (Korresp.-Bl. f. Schweizer Aerzte. Jg. XXXV. 1905. N. 5. p. 137—144.)

Bier, Brauerei.

Christek, W., Die Christeksche Universal-Brennereikunsthefe. Neues Brennereiverfahren. (Oesterr. Landw. Wchnbl. Jg. XXXI. 1905. N. 6. p. 43—44.)

Keil, H., Die im Januar 1905 untersuchten Biere. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 9. p. 125—127.)

Šula, Jar., Welchen Veränderungen unterliegt pasteurisiertes Bier? (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXIII. 1905. N. 11. p. 116—118. [Oesterr. Brauer- u. Hopfenztg. 1905. N. 4.])

Milch, Molkerei.

Adametz, L. und **Chrząszcz**, Ueber die Bildung flüchtiger Alkaloide in sterilisierter Magermilch durch Bacillus nobilis und das Vorkommen ebensolcher Verbindungen im Emmentalerkäse. (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. I. 1905. Heft 2. p. 78—79.)

Koning, C. J., Biologische und biochemische Studien über Milch. Teil 1: Die bakterizide Phase. (Milchwirtsch. Centralbl. Jg. I. 1905. Heft 2. p. 49—68.)

Moussu, G., Les qualités du lait des vaches tuberculeuses. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 7. p. 310—312.)

Peter, Albin, Versuche mit Freudenreichschen Reinkulturen zur Bereitung von Emmentalerkäse. (Milch-Ztg. Jg. XXXIV. 1905. N. 10. p. 111—112.)

Salge, B., Immunisierung der Milch. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LXI. F. 3. Bd. XI. 1905. Heft 3. p. 486—499.)

Zahn, Gewinnung gesunder und einwandfreier Milch. (Wchnbl. d. Landw. Ver. i. Großherzogt. Baden. 1905. N. 10. p. 132—133.)

Wein, Weinbereitung.

Desmoulins, A. M., Urgence du traitement de la casse brune. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 17. p. 66.)

—, Conservation des vins en bouteilles. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 20. p. 77—80.)

Piot, R., Les vins verts. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 18. p. 69—70.)

Piot, H., Les soutirages de mars. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 19. p. 74.)
Windisch, Karl, Ueber die Herstellung von Branntwein aus Birnen. (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 9. p. 87–88.)

Andere Nahrungsmittel.

Molisch, Hans, Ueber das Leuchten von Hühnereiern und Kartoffeln. (Sitzungsber. k. Akad. Wiss. Wien. Math.-nat. Kl. 19. Jan. 1905.)
Zawadzki, J., O działalności drobnoustrojów w cukrownictwie. (Mikroorganismen bei der Fabrikation des Zuckers). (Gaz. cukr. Warszawa, 22. 1904. p. 95—101.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Assmann, Herbert, Versuche über den Wert des Aethylalkohols, insbesondere bei bakteriologischen Sektionen. Diss. med. Königsberg 1905. 8°.
Beaufils et **Langlois, J. P.**, Action des peintures murales sur les microbes. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 7. p. 297—298.)
Burrill, T. J., Micro-organisms of soil and human welfare. (Science. N. S. Vol. XX. 1904. p. 426—434.)
Fischer, Martin H., The toxic effects of Formaldehyde and Formalin. (Journ. of exper. med. Vol. VI. 1905. N. 4/6. p. 487—518. 3 Taf.)
Kausch, Neuerungen auf dem Gebiete der Desinfektion und Sterilisation. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. 1905. N. 6/7. p. 168—174. 14 Fig.)
Rodet, A., Expériences sur la valeur antiseptique du savon commun. Remarques sur l'action des antiseptiques en général et sur la biologie du staphylocoque pyogène. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 6. p. 264—266.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Cercelet, Le phylloxera: description et biologie. (Rev. de viticulture. Année XII. 1905. T. XXIII. N. 586. p. 272—273. 1 Taf.)
(**Dommes**,) Kokosblattkrankheit im Bismarckarchipel. (Tropenpflanzer. Jg. IX. 1905. N. 1. p. 40—41.)
Ueber die Verbreitung der Reblaus in Oesterreich in den Jahren 1902 und 1903. [Schluß.] (Weinlaube Jg. XXXVII. 1905. N. 10. p. 111—113.)
Wurth, Theophil, Rubiaceen bewohnende Puccinien vom Typus der Puccinia Galii. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 5/6. p. 209—224. 14 Fig.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

D. G., La destruction de l'oeuf d'hiver du phylloxéra par le lysol. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 20. p. 78.)
Hodder, W. M., The destruction of mosquitoes. (Journ. of trop. med. Vol. VIII. 1905. N. 5. p. 74—77.)
Mossé, J., Traitements contre le mildiou. (Rev. de viticulture. Année XII. 1905. T. XXIII. N. 586. p. 273—275.)
Schmid, Bekämpfung der Rebschildlaus. (Wchnbl. d. landw. Ver. i. Herzogt. Baden. 1905. N. 9. p. 116—117.)

Inhalt.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 15|16.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der Bakterienniveaus von Beijerinck und der Bakteriengesellschaften von Jegunow.

Von Prof. Dr. K. B. Lehmann und Henri Curchod, Genf.

(Vorläufige Mitteilung.)

Die folgenden Mitteilungen sollen in aller Kürze die wichtigeren Resultate einer im Sommer 1904 im hygienischen Institut zu Würzburg ausgeführten Arbeit in deutscher Sprache mitteilen[1]). Ausführlich wird Herr Curchod über die Arbeit in französischer Sprache berichten.

Wir setzen im folgenden die Kenntnis der Arbeiten von Beijerinck und Jegunow als bekannt voraus, und führen kurz die Literatur am Schlusse an.

I. Morphologie der Bakterienniveaus einiger Bakterienarten.

Näher studiert wurden Bacterium typhi, coli, vulgare, Vibrio cholerae, Bacterium fluorescens, Bacterium pyocyaneum und ein von einer Kartoffel frisch isolierter Stamm, welcher zu Bacterium fluorescens gehört, sich aber in der Niveaubildung von den Kulturen unserer Sammlung etwas unterscheidet, was durch verschieden lange Züchtung auf künstlichen Nährböden bedingt sein dürfte. Von sporentragenden Arten wurde nur Bacillus subtilis verwendet. Typische Anaëroben sind nicht studiert.

Die Versuchsanordnung war immer genau die gleiche. Es wurden 0,5 ccm gewöhnlicher Nährgelatine auf den Boden eines sterilen Reagensglases gebracht und der Tropfen nach seiner Erstarrung mit einer Reinkultur geimpft und mit ca. 16 ccm sterilen destillierten Wassers überschichtet, so daß die Wassersäule 8 cm hoch war. Die Gläser standen bei Zimmertemperatur vor Erschütterung und grellem Temperaturwechsel geschützt. Das diffuse Tageslicht war auf die Entwickelung der Niveaus ohne Einfluß.

Die im folgenden gegebene Schilderung der Niveaubildung bei den einzelnen Arten ist abgeleitet aus einer größeren Anzahl von Beobachtungen und schildert das Verhalten, das uns als typisch erscheint. Es sei aber auch hier hervorgehoben, daß Abweichungen von diesem Befund im einzelnen nicht selten beobachtet wurden. Dieselben werden von Herrn Curchod genauer beschrieben werden. Soviel steht jedenfalls fest, daß sich Niveaubildungen zur Unterscheidung nahestehender Bakterienarten nicht verwenden lassen.

Um jede Art von Mißverständnis auszuschließen, gebrauchen wir in folgendem das Wort „Niveau“ nur für Bakterienansammlungen, welche sich streng horizontal als papierdünne Häutchen durch die Flüssigkeit des Röhrchens erstrecken. Außer diesen scharf umschriebenen Niveaus

---

1) Ich habe schon 1896 durch Herrn Dr. Miodowski die interessanten Angaben Beijerincks über Niveaubildung in Bakterienkulturen nachprüfen lassen. Es blieben damals eine Reihe von Fragen ungelöst und dies war die Veranlassung zu den folgenden Untersuchungen. Lehmann.

sprechen wir noch von Trübungen, d. h. von diffusen, mehr oder weniger dichten Bakterienansammlungen, welche sich oberhalb oder unterhalb des Niveaus befinden können, und die wir dementsprechend als „obere oder untere Trübung“ unterscheiden. Die Trübungen sind nach oben und unten manchmal ziemlich scharf begrenzt, namentlich pflegt die untere Trübung nach oben sehr deutlich und eben abgegrenzt zu sein. Zwischen Niveau und Trübung liegt eine mehr oder weniger gut entwickelte klare Zone. Namentlich ist das Niveau von der unteren Trübung häufig durch eine äußerst scharfe und deutlich klare Zone getrennt.

Bei oberflächlicher Betrachtung besteht die Gefahr, mit Bakterienniveaus in älteren Kulturen etwas zu verwechseln, nämlich flockige, ringförmige, an der Glaswand haftende Ansammlungen, welche als Reste früherer an diesen Stellen befindlicher Niveaus aufzufassen sind. Sie treten namentlich dann hervor, wenn in älteren Kulturen die Niveaus, nachdem sie ihren höchsten Punkt erreicht haben, wieder langsam sinken und dabei an Stellen, an denen sie sich längere Zeit aufgehalten haben, an der Wand Rückstände hinterlassen. Die Unterscheidung eines solchen Rückstandes von einem wirklichen Niveau ist leicht durch einfaches Neigen des Reagenzglases vorzunehmen.

Ueber die Niveaus der einzelnen Arten ist folgendes zu sagen:

Bacterium typhi, coli und putidum. Das Niveau ist bei diesen drei Arten nach 24 Stunden meist deutlich und scharf entwickelt und wird später bei B. typhi und coli recht kräftig. Oberhalb desselben zeigt sich gleichzeitig bei allen dreien eine zarte Trübung von höchstens $^1/_2$ cm Höhe, die nicht durch eine klare Zone vom Niveau getrennt ist und nach 2—3 Tagen verschwindet. Von da ab ist oberhalb des Niveaus alles klar. Unterhalb des Niveaus zeigen die drei Arten eine Trübung, die besonders dicht bei B. typhi und coli wird. Diese Trübung ist bei Bacterium typhi und coli schon früh, bei Bacterium putidum etwas später entwickelt und nicht ganz so scharf durch eine klare Zone von dem Niveau getrennt. Die untere Grenze der unteren Trübung reicht im Winter bis auf die Gelatine, im Sommer steht sie 1—2 cm höher oben, was wir dadurch erklären, daß bei hoher Temperatur die Gelatine erweicht und 1—2 cm weit eine so zähe Beschaffenheit der Flüssigkeit hervorbringt, daß die Trübung schon an dieser Stelle aufgehalten wird. Einen Unterschied von Bacterium typhi und coli können wir nicht angeben, beiden gemeinsam ist aber, daß das Niveau etwas dicker ist, als wie bei putidum.

Bacterium vulgare verhält sich ganz ähnlich wie Bacterium typhi, nur ist sein Niveau etwas dünner und es tritt vom 20. Tage ab eine nachträgliche Trübung oberhalb des Niveaus ein.

Vibrio cholerae zeigt oberhalb und unterhalb des Niveaus eine leichte Trübung. Das Niveau hat eine besonders kurze Dauer von im Maximum 18 Tagen. Vibrio cholerae wäre noch spezieller zu studieren in verschiedenen Stämmen.

Bacterium pyocyaneum. Anfangs entsteht ein dünnes Niveau mit einer darunter gelegenen Trübung ohne eine Andeutung einer klaren Zone zwischen beiden. Vom 7. Tage ab, d. h. wenn das Niveau seinen höchsten Punkt erreicht hat und wieder zu sinken anfängt (s. u.), beginnt die Entwickelung einer Trübung oberhalb des Niveaus. Nach längerer Zeit zeigt der Röhrcheninhalt eine feine und gleichmäßige Trübung, die an einer Stelle von einem scharfen Niveau durchschnitten wird.

Bacterium fluorescens. Unter dem Niveau ist früh eine deut-

liche Trübung vorhanden, die durch eine scharfe klare Zone getrennt ist. Auch oberhalb des Niveaus bildet sich, und zwar sehr früh (nach 2 Tagen) eine kräftige Trübung, die anfangs nur $^1/_2$ cm Höhe besitzt, sich aber dann bis zur Wasseroberfläche erstreckt. Nach 30 Tagen ist die obere Trübung schwach, unter dem Niveau ist die Trübung stark.

Bacillus subtilis. Anfangs ein Niveau mit einer sehr leichten Trübung darunter. Die klare Zone ist meist nicht deutlich entwickelt. Das Niveau verschwindet bald. Statt dessen treten in der Flüssigkeit Flocken auf, welche bald auf den obersten Centimeter beschränkt, bald in etwas tieferen Schichten auf 2—3 cm Wegstrecke zerstreut sind. Bei der mikroskopischen Betrachtung bestehen die Flocken aus Fäden, die dick mit Sporen gefüllt sind.

II. Gibt es mehrere Niveaus bei der gleichen beweglichen Art.

Eine Hauptaufgabe der vorliegenden Studie war, die hochinteressante Frage zu untersuchen, ob, wie dies Beijerinck zuerst angegeben hat, und Miodowski einige Male bestätigen konnte, in einer Reinkultur mehrere verschiedene Niveaus auftreten können.

Faßt man den Begriff Niveau so scharf, wie wir es oben getan haben, d. h. beschränkt man ihn auf dünnste Bakterienansammlungen, so haben wir Doppelniveaus fast niemals beobachtet. Einmal wurden im Anfang bei einem Choleraröhrchen zwei nahe beisammenliegende Niveaus gesehen, die nur 12 Stunden dauerten. Doch genügt diese eine Beobachtung, um uns zu warnen, Beobachtungen anderer Autoren in dieser Richtung ohne weiteres zu bezweifeln. Dagegen ist sicher, daß ein Teil der Miodowskischen doppelten Niveaus nichts anderes war als das, was wir obere und untere Trübung genannt haben. Miodowski bezeichnete eben jede einigermaßen distinkte Bakterienansammlung als Niveau, mochte sie so breit sein, wie sie wollte.

Auch Beijerinck hat bei seiner Beschreibung von coli und typhi das Wort „Niveau“ auch für breite Bakterientrübungen gebraucht.

Unsere Hoffnung, bei Bakterien echte, dünne Niveaus mehrfach entstehen zu sehen, und aus ihnen Organismen mit verschiedenen biologischen Eigenschaften züchten zu können, hat sich nach dem Gesagten nicht erfüllt.

III. Steigen und Sinken der Niveaus.

Wie Beijerinck schon beobachtete, entwickeln sich die Niveaus zuerst in tiefen Schichten in der Nähe der Nährstoffe und steigen dann langsam in die Höhe. Dagegen hat Beijerinck nicht beobachtet, was wir regelmäßig konstatierten, daß, nachdem die Niveaus am 9. und 12. Tage ihren höchsten Punkt erreicht hatten, und nun ca. 6 cm über dem Gelatinetropfen oder $5^1/_2$ cm über dem Agartropfen standen und der Oberfläche um $2—1^1/_2$ cm nahe gekommen waren, wieder zu sinken beginnen[1]. Nach 30 Tagen haben sich die Niveaus von Bacterium vulgare und typhi sowie vom Vibrio cholerae meist aufgelöst, während die von Bacterium putidum und pyocyaneum nur mehr 2 bis 3 cm oberhalb des Agartropfens stehen und leicht und deutlich gesehen werden können.

Ein großer Unterschied in dem Aufsteigen und Absinken der Niveaus bei den von uns studierten Arten ist nicht zu konstatieren.

---

1) Jegunow hat dergleichen bei seinen Schwefelbakterien gesehen.

Beifolgende Tabelle von Bacterium putidum gibt über den Gang des Niveaus ein Bild, das auch für die übrigen Arten im wesentlichen Geltung besitzt.

Tage	Höhe des Niveaus in cm
1	0
5	5,2
10	6
15	4,5
20	4
25	3,3
30	3

IV. Niveaubildung bei unbeweglichen Arten.

Schon Beijerinck hat gezeigt, daß nur bewegliche Arten scharfe Niveaus bilden. Bei dem unbeweglichen Saccharomyces hat er nur eine sehr deutlich begrenzte Ansammlung von ziemlicher Dicke beobachtet. In Uebereinstimmung mit Miodowski haben wir von den unbeweglichen Micr. pyogenes, Bacterium pneumoniae und Bacillus anthracis keine echten Niveaus, sondern bei den beiden ersten eine nach oben hin scharf begrenzte Trübung, bei dem letzten nur einen weißen Niederschlag am Boden des Gläschens beobachtet.

V. Biologische Beobachtungen an den Niveaus.

1) Die Grundvorstellung von Beijerinck, daß sich das Niveau an der Stelle bilde, wo von unten genügend Nährstoff, von oben genügend Sauerstoff zusammentreffen, um ein Optimum für die Bakterienentwickelung zu schaffen, scheint auch durch unsere Versuche durchaus bestätigt. Das große Rätsel, warum die Niveaus eine solche dünne Schicht bilden, halten wir auch nach unserer Beobachtung nicht für vollkommen aufgeklärt.

2) Mischt man dem Wasser wenig Methylenblau bei, so bildet sich in der blauen Flüssigkeit binnen ca. 24 Stunden ein Niveau. Etwa 2mal 24 Stunden später ist der Sauerstoff unterhalb des Niveaus verschwunden und bleibt verschwunden während einer noch so lange dauernden Beobachtungszeit, wogegen oberhalb des Niveaus stets eine blaue Färbung gefunden wird. Die Entfärbungsgrenze fällt fast absolut genau mit dem Niveau zusammen. Nimmt man die Blaufärbung etwas stärker, und beobachtet man das Niveau statt in Röhren in platten Fläschchen, so findet man stets, daß die blaue Farbe nicht so ganz scharf im Niveau abschneidet, sondern sich 1—2 mm meist etwas verwaschen unterhalb desselben erstreckt. Auch bei nachträglicher vorsichtiger Färbung eines Niveauröhrchens erhalten wir binnen 4—12 Stunden Entfärbung unterhalb des Niveaus.

3) Daß die Nahrungsmenge auf die Stellung des Niveaus einen maßgebenden Einfluß hat, läßt sich in eleganter Weise dadurch zeigen, daß man in vielen Gläschen gleichzeitig verschieden große Mengen von Nährgelatine am Grunde anbringt. Wir haben $^1/_{10}$—2 ccm zu diesem Zweck angewendet. Verfolgt man die Stellung der Niveaus in diesem Gläschen, so sieht man, daß sie da, wo mehr Nährstoffe sind, rascher emporsteigen und eine größere Höhe erreichen, und auch später heruntersinken, als in den mit wenig Nährstoff beschickten. Zahlenbelege wird Herr Cur-

chod darüber mitteilen. Man wird dabei allerdings nie vergessen dürfen, daß Hand in Hand mit dem größeren Nährstoffgehalt auch ein größeres spezifisches Gewicht der Flüssigkeit einhergeht, und daß auch das größere spezifische Gewicht ein Aufsteigen der Niveaus begünstigt. Hierüber wären noch Versuche anzustellen.

4) Die Bedeutung des Sauerstoffzutritts für das Aufsteigen der Niveaus läßt sich noch in anderer Weise als dies Beijerinck getan hat, durch Ueberschichten der Reagenzgläser mit Oel dartun. Nach dieser Ueberschichtung steigen die Niveaus sehr rasch.

5) Durch besondere Versuche haben wir uns überzeugt, wie der Nährstoffgehalt in den einzelnen Schichten eines Niveauröhrchens sich verhält. In 3 Versuchen wurden 2mal je 9 ccm 10-proz. Nährgelatine und einmal 9 ccm 1-prozent. Nähragars in ein weites Becherglas gebracht und 360 ccm destilliertes Wasser darüber geschichtet. Hierauf wurden mit einer Pipette die obersten 100 ccm abgesaugt, dann die zweiten Hundert, die dritten Hundert und jedesmal der Rückstand in diesen Mengen bestimmt.

	Versuch I mit Gelatine	Versuch II mit Gelatine	Versuch III mit Agar
Oberste Schicht	0,036	0,024	0,028
Mittlere Schicht	0,180	0,062	0,039
Unterste Schicht	0,447	0,265	0,049
Dauer	6 Tage	12 Tage	12 Tage
Temperatur	20—22°	12 bis circa 15°	12—15°

Die Tabelle zeigt den außerordentlich geringen Nährstoffgehalt der obersten Schicht, der es sehr verständlich macht, daß die Bakterienniveaus nicht bis ganz an die Oberfläche steigen, wenn sie auch daselbst etwas mehr Sauerstoff zur Verfügung haben. Es ist ferner sehr auffallend, wie viel geringer die Nährstoffmengen sind, die aus dem Agar, wie die, welche aus der Gelatine herausgehen, obwohl er mit der gleichen Bouillongrundlage hergestellt ist. Es muß daraus gefolgert werden, daß aus der Gelatine selbst lösliche Stoffe nach oben diffundieren, währenddem aus Agar kaum etwas zu diffundieren scheint. Agar verhält sich wie ein echtes Kolloid, wogegen in der Gelatine diffusionsfähige Körper in größerer Menge vorhanden sind. — Der große Unterschied in den Zahlen der Gelatineversuche I und II dürfte sich wohl so erklären, daß die eingebrachte Gelatine in Versuch I bei 20—22° in der Nähe ihres Schmelzpunktes sich befand, während sie in dem II. Versuch, in dem trotz doppelter Versuchsdauer wesentlich weniger Substanz in Lösung ging, stets eine Temperatur besaß, die weit von ihrem Schmelzpunkt entfernt war.

6) Das Herabsteigen der Niveaus bei länger dauernden Versuchen dürfte sich so erklären, daß nach langer Zeit brauchbare Nährstoffe nur noch in minimalen Mengen von dem Gelatinetropfen abgegeben werden und nur in relativer Nähe desselben eine zum Wachstum genügende Konzentration erreichen.

7) Mit bloßem Auge betrachtet, unterliegt es keinem Zweifel, daß in dem Niveau die dichteste Anhäufung von Bakterien statthaben muß. und daß in den Trübungen oberhalb und unterhalb, wo solche vorhanden sind, höchstwahrscheinlich geringere Bakterienmengen anwesend sind.

Daß die Bakterienmengen in und über dem Niveau lebendig sind, ist von vornherein wahrscheinlich. Das Niveau liegt an einer ausgezeich-

neten Stelle — der Grenze des freien Sauerstoffes, und reagiert auf jede Veränderung der Sauerstofftension, eine oberhalb des Niveaus gelegene Trübung aber ist doch kaum anders zu erklären, als daß lebende Bakterienschwärme gegen die Oberfläche der Flüssigkeit vorzudringen suchen.

Gar nichts wissen wir dagegen a priori darüber, ob die Trübung unterhalb des Niveaus von lebenden oder toten Bakterien gebildet wird. Bei Ueberlegung scheint das letztere gar nicht unwahrscheinlich zu sein. Mindestens möchte man voraussetzen, daß es Organismen sind, die ein geringes Sauerstoffbedürfnis oder eine geschädigte Beweglichkeit besitzen.

8) Um wenigstens einige Auskünfte über diese Fragen zu bekommen, haben wir eine Reihe von Zählungen vorgenommen. Es ist nicht schwer, mit einer kapillaren Pipette, in der man mittels eines Kautschukschlauches und des Mundes einen leichten Ueberdruck hervorbringt, an eine beliebige Stelle der Kultur zu gelangen, ohne daß Flüssigkeit in die Pipette eindringt. Läßt man dann mit dem Druck nach, so kann man einige Tropfen Flüssigkeit an einer bestimmten Stelle entnehmen. Dies macht natürlich gar keine Umstände bei der oberen und unteren Trübung; ist aber immer ungenau und unsicher, wenn es sich um Entnahme aus dem papierdünnen Niveau handelt. Man wird deshalb von vornherein zugeben müssen, daß, wenn man nach dieser Methode aus dem Niveau höhere Zahlen bekommt wie oberhalb und unterhalb, dies ein strenger Beweis dafür ist, daß im Niveau die Bakterien am dichtesten liegen. Sollte man keine auffallend höheren Zahlen erhalten, so kann man immer noch annehmen, daß die Pipettenspitze ein wenig zu hoch oder tief gestanden und vorwiegend Flüssigkeit aus den keimarmen, an das Niveau angrenzenden Flüssigkeitsschichten geschöpft habe.

Die drei Flüssigkeitsproben wurden jedesmal aus drei verschiedenen gleichzeitig angelegten Gläschen geschöpft, um Störungen der Verhältnisse durch mechanische Eingriffe tunlichst zu vermeiden. Zu Platten wurde je eine Oese der Flüssigkeit verwendet. Die angeführten Zahlen entsprechen dem Mittel von 5 bei schwacher Vergrößerung mikroskopisch gezählten Gesichtsfeldern, haben also nur relativen Wert.

Die Zahlen der Tabelle beweisen, daß oberhalb des Niveaus vom 4. bis 9. Tag bei Bacterium typhi, coli, putidum und vulgare nur ganz vereinzelte lebende Bakterien vorhanden sind, im Niveau zahlreiche, unterhalb desselben, in der von uns so genannten unteren Trübung ziemlich viele, aber doch höchstens 50 Proz. der Menge des Niveaus.

Man kann aus diesen Zahlen ruhig schließen, die klare Schicht der Flüssigkeit oberhalb des Niveaus ist keimfrei, das Niveau keimreich, die untere Trübung ziemlich keimreich.

Recht verschiedene Resultate gibt das Bacterium fluorescens, das eine deutliche obere und untere Trübung besitzt. Hier enthält die obere Trübung ziemlich viele, das Niveau etwas mehr Keime, die untere Trübung in der einen Serie etwas mehr, in der anderen mehr als doppelt soviel als das Niveau selbst! Es könnte hier wohl ein Ansaugen aus der breiten bakterienarmen klaren Zone unterhalb des Niveaus mit in erster Linie an diesem auffallenden Resultat über die Bakterienzahl im Niveau schuld sein. (Siehe Tabelle p. 455.)

VI. Bewegungserscheinungen und Gestaltveränderungen im Gebiete des Niveaus.

1) Bisher haben wir die Niveaus als vollständig ebene, papierdünne Häutchen geschildert. Auch Beijerinck hat dieselben so beschrieben.

Bakterienzahl in einem Gesichtsfeld einer Plattenkultur aus verschiedenen Schichten eines Niveauröhrchens.

Art	Nummer	Alter	Oberhalb des Niveaus	Niveau	Unterhalb des Niveaus
Bacterium typhi	I	4	1	30	15
	II	9	3	55	30
		Mittel	**2**	**43**	**23**
Bacterium coli	I	4	1	70	17
	II	9	3	130	97
		Mittel	**2**	**100**	**57**
Bacterium putidum	I	4	2	30	12
	II	7	2	22	10
		Mittel	**2**	**25**	**11**
Bacterium vulgare	I	4	3	50	12
	II	7	3	95	7
		Mittel	**3**	**71**	**9**

Spezielle Versuche über Bacterium fluorescens.

	Agar			Gelatine		
	Oberhalb des Niveaus	Niveau	Unterhalb des Niveaus	Oberhalb des Niveaus	Niveau	Unterhalb des Niveaus
I. 12. IX.	56	41	55	31	51	49
II. 13. IX.	36	24	35	17	32	100
III. 14. IX.	12	23	37	40	32	90
IV. 15. IX.	10	40	31	13	—	68
V. 16. IX.	21	42	60	8	24	106
VI. 16. IX.	38	98	67			
Mittel	**28**	**45**	**47**	**22**	**35**	**83**

Zu unserem größten Erstaunen beobachteten wir eines Tages, wie sich in einem Niveau von Bacterium putidum vor unseren Augen die glatte Fläche an einer Stelle als kleiner Vorsprung vorwölbte. Aus der Vorwölbung entstand ein kleiner Trichter; die Spitze des Trichters verdickte sich zusehends, schließlich sank mit geringer Geschwindigkeit eine weißlichgraue Bakterienmasse aus dem Niveau gegen den Boden des Reagenzglases. Die Gestalt der Masse war die eines derben, an der Spitze etwas verdickten Fadens. Die Spitzenverdickung nahm zu, hierauf teilte sich die Endkugel, die beiden neuen Enden des Fadens zeigten aufs neue kugelige Anschwellung, und wir erhielten schließlich ein mehrfach gegabeltes, zartes, grauliches, aus dem Niveau in das Reagenzglas herunterhängendes Gebilde, das sich allmählich, nachdem zuerst sein Zusammenhang mit dem Niveau undeutlich geworden war, auflöste. Aehnliche Gebilde haben wir bei allen von uns untersuchten Bakterienarten gelegentlich gesehen. Nur Vibrio cholerae ist nicht näher in dieser Richtung studiert. Niemand wird zweifeln, daß die Massen, die herunterfallen, Bakterienmassen sind, und den Grund des Fallens wird man ungezwungen darin suchen dürfen, daß abgestorbene oder wenig bewegliche, oder verquollene, oder miteinander verklebte, kurzum zum Aufenthalt im Niveau weniger befähigte Organismen aus dem Niveau ausscheiden. Ob dies rein passiv geschieht, oder ob die im Niveau verbleibenden Organismen

aktiv dabei mitwirken, ist natürlich vorläufig ganz unentscheidbar. Dagegen ist ohne weiteres einleuchtend, daß das Niveau nur dann seine konstante Dicke bewahren kann, wenn überschüssig gebildete Organismen dasselbe verlassen, und daß es nur dann seine wunderbaren biologischen Eigenschaften auszuüben im stande ist, wenn es aus lauter extrem lebensfähigen und reizbaren Organismen besteht.

2) Außer dieser Bildung tropfen- und stalaktitenartiger Bakterienmassen haben wir noch andere Vorgänge an den Niveaus beobachtet, welche mit dem oben beschriebenen Vorgang zwar durch Uebergänge verbunden sind, aber doch eine besondere Beschreibung verdienen.

Namentlich in jungen Niveaus von Bacterium coli, typhi und putidum, die in platten Fläschchen entstanden sind, kann man manchmal im Lauf von einer Stunde die auffallendsten Veränderungen im Niveau mit bloßem Auge beobachten. Die Oberfläche eines Niveaus zeigt ziemlich regelmäßig in Reihen angeordnete stärkere Verdichtungen oder Ansammlungen der das Niveau bildenden Bakterienmasse.

Wir haben z. B. in einem Versuch bei Bacterium typhi auf dem etwa 3 qcm großen, schmalen, in dem platten Kolben entstandenen Niveau 4 Längsreihen von je 10—12 weißlichen Fleckchen gesehen, welche bei genauer Betrachtung sich später etwas nach unten vorwölbten. Man kann diese Fleckchen dann als seichte Trichter oder Buckel bezeichnen, und den ganzen Anblick einer solchen Platte etwa mit dem eines Küchenreibeisens vergleichen. Nach einiger Zeit bemerkt man in den tiefen Schichten des Kolbens feine vertikale graue Fäden, welche aus den Trichterchen der Platten entstanden zu sein scheinen, aber immer durch die klare Zone unterhalb des Niveaus mehr oder weniger scharf von dem Niveau selbst getrennt sind. Trotz aller Bemühungen ist es uns niemals gelungen, ganz einwandfrei den Zusammenhang der flachen Trichter mit den Fäden zu beobachten.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß sich auf dieser Platte an vielen Stellen und in zarter Weise ein ähnlicher Prozeß abgespielt hat, wie wir ihn unter No. 1 als Säulen- oder Stalaktitenbildung beschrieben haben. Nur macht der eben beschriebene Vorgang in hohem Maße den Eindruck, als ob Lebensäußerungen der Bakterien dabei im Spiel seien. Man könnte sich den Vorgang etwa so erklären, daß die lebenden Bakterien der Platte Wirbel bilden, in die die auszuscheidenden Organismen hineingezogen werden, und daß ein Sinken der schlecht beweglichen, absterbenden Organismen stattfindet, wenn sie an gewissen Punkten versammelt sind und nicht mehr etwa von beweglichen Organismen getragen werden.

3) Bei Bacterium fluorescens, das wir aus Kartoffeln neu gezüchtet hatten, haben wir noch kompliziertere Vorgänge gesehen. Wie oben berichtet, bildete dasselbe oberhalb des Niveaus eine ziemlich starke Trübung, die durch eine nicht scharf abgegrenzte klare Zone vom Niveau geschieden ist. Wir haben nun mehrfach gesehen, wie sich in dieser trüben Zone Bakterienmassen in keilförmige Massen zusammenballten, gegen die Niveaus heruntersanken, das Niveau und die darunter liegende klare Zone durchbohrten, und als Faden dem unteren Teil des Fläschchens zustrebten. Das Niveau scheint dabei nur passiv von den herunterfallenden Fäden etwas ausgebuchtet zu werden.

Daneben haben wir aber auch beobachtet, daß sich gleichzeitig und unbeeinflußt durch aus der oberen Trübung herabkommende Bakterienmassen auch aus dem Niveau kleinere oder größere Trichterchen vorstülpten und Fäden nach unten zogen.

4) Wir haben in den vorhergehenden Sätzen in vorsichtiger Weise ausgedrückt, daß wir in dem Auftreten der Trichter, Säulen und Fäden ein Zusammenwirken der Schwerkraft mit aktiven Kräften der Bakterien erblicken. Mit unseren Methoden war es unmöglich, zu sehen, ob neben den unzweifelhaft in diesen Bildungen ausgeschiedenen, minderwertigen Organismen auch bewegliche in die Tiefe tauchten, um, nachdem sie Nahrung aufgenommen hätten, wieder zum sauerstoffreichen Niveau zurückzukehren.

5) Die von uns beschriebenen morphologischen Veränderungen an den Niveaus sind von uns nicht zum ersten Mal gesehen. Im Jahre 1896 und 1897 und 98 hat Jegunow in einer ganzen Serie von Arbeiten ähnliche Dinge beschrieben. Die außerordentlich dunkle Art, mit der er seine schönen Beobachtungen beschreibt, das inkorrekte Deutsch, die unklare Bezeichnung der einzelnen Bakterienarten und der einzelnen morphologischen Bildungen, das Nichtverwenden von Reinkulturen, das Arbeiten mit nicht ohne weiteres zugänglichen russischen Schwefelschlammbakterien, sind jedenfalls daran schuld gewesen, daß seine Beobachtungen bisher in der Literatur wenig Beachtung gefunden haben, obwohl sie von prachtvollen Photographieen und können schematischen Zeichnungen begleitet sind.

Nachdem wir nun für allgemein zugängliche Organismen im Prinzip offenbar vollständig identische Bildungen beobachtet und in zurückhaltender Form beschrieben haben, wird hoffentlich die volle Aufklärung ihrer Bedeutung nicht mehr allzu lange auf sich warten lassen. Leider sind die von uns untersuchten Bakterien so klein, daß keine Aussicht besteht, an ihnen die Jegunowschen Angaben über das Austreten aktiv beweglicher Bakterien aus den Trichtern und Rückkehr derselben in das Niveau mit Aussicht auf Erfolg zu kontrollieren. Ebenso halten wir eine ausführliche Diskussion der übrigen Jegunowschen Angaben und Theorieen für verfrüht und aus den oben angegebenen Eigenschaften dieser Mitteilungen auch für sehr schwierig.

6) Durch einen Versuch haben wir schließlich noch zu entscheiden versucht, ob in den Trichter- und Säulenbildungen aktiv bewegliche Bakterien einen wesentlichen Anteil haben. Wir haben nämlich unsere Versuche wiederholt mit Fläschchen, welche über der Gelatine statt mit Wasser mit 1-promill. Agar gefüllt waren. Ein solcher Agar stört, wie schon Beijerinck fand, die Bildung des Niveaus nicht, also hemmt er die Eigenbewegung der Bakterien nicht oder nicht wesentlich, denn ohne Eigenbewegung sind Niveaus undenkbar. — Es blieb aber in einem solchen dünnen Agar die Trichter- und Säulenbildung vollständig aus, das Niveau wurde immer dicker, nach oben und unten etwas undeutlich.

Man könnte aus diesem Versuch schließen wollen, daß die Trichter- und Säulenbildung ganz passive Vorgänge seien, und daß sie deswegen ausblieben, weil das spezifische Gewicht der Flüssigkeit jetzt zu groß sei, um ein Sinken der Bakterien zu gestatten. Es ist aber unter anderem auch die Deutung möglich, daß in dieser zähen Masse eben doch eine gewisse Beeinträchtigung in der Bakterienbewegung stattfindet, so daß die Anhäufung auszuscheidender Bakterien an bestimmten Punkten so weit erschwert ist, daß sich keine größeren Ansammlungen bilden.

VII. Niveaubildung bei Mischinfektion.

Bringt man die von uns in dieser Arbeit studierten Arten zu mehreren in ein mit Gelatinetropfen und Wasser beschicktes Gefäß, so bildet

sich nach unseren Erfahrungen stets nur ein Niveau [1]), das, soweit sich durch Plattenkulturen ganz sichere Resultate erlangen lassen, im wesentlichen aus der Reinkultur eines der verwendeten Organismen besteht. Vereinzelte Kolonieen einer anderen Art, die man in den Platten findet, bedeuten natürlich bei der Schwierigkeit, Keime nur aus dem Niveau zu entnehmen, nicht viel. — Die Trübung oberhalb des Niveaus stellt eine Reinkultur dar, wenn nur eine der verwendeten Arten eine solche Trübung erzeugt. Unter dem Niveau findet man gewöhnlich eine größere Zahl der verwendeten Arten in Mischung. Es ist dieser Befund nicht gerade auffällig, denn es ist klar, daß ein einmal gebildetes Niveau für die anderen Arten eine außerordentliche Schwierigkeit der Entwickelung darstellt, indem oberhalb des Niveaus Nahrungsmangel, unterhalb des Niveaus Sauerstoffmangel herrscht.

VIII. Anhang.
Einige Beobachtungen über Temperatureinflüsse auf die Niveaus.

Wie schon Beijerinck angedeutet und Jegunow etwas ausführlicher ausgesprochen hat, sind zarte Niveaus außerordentlich empfindlich gegen Wärme.

Höchst elegante Bewegungen kann man das Niveau ausführen lassen, wenn man das Röhrchen einen Moment in warmes Wasser eintaucht; es genügt eine Sekunde und Wasser von 34°, wenn das Röhrchen eine Temperatur von 20° gehabt hat. Sofort biegt sich das Niveau nach unten aus und wölbt sich schließlich so weit nach unten, daß es nur wenig von der Gelatineschicht am Grunde entfernt ist. Dabei wird die an der Glaswand anlehnende Randzone des Niveaus häufig deutlich sichtbar nach oben gerissen. Einige Augenblicke später ist die untere Krümmung des Niveaus ziemlich verschwunden. Die aufsteigende Wassermenge hat einen großen Teil der Masse des Niveaus als diffuse Trübung an die Oberfläche gerissen, und aus dieser Trübung senkt sich nun wieder entsprechend der niedrigen Temperatur des zentralen Wasserfadens ein trüber schmaler oder breiter Flüssigkeitscylinder nach unten. Umgekehrt: Wenn man ein Niveauröhrchen in kühles Wasser eintaucht, so wölbt sich das Niveau nach oben. Einmal konnten wir einem Niveau längere Zeit zusehen, welches dabei die Lage seiner Randzone an der Glaswand gar nicht veränderte. Es erhob sich das Niveau — mit seinem Rand offenbar an dem Glas irgendwie fixiert — als $2^1/_2$ cm hoher scharfer Kegel in die Höhe und sank nach dem Herausnehmen aus dem kühlen Wasser wieder in seine ursprüngliche Form zurück. Wahrscheinlich werden aber andere Niveaus bei der Kälteeinwirkung ein Aufsteigen nach oben zeigen, während manche Niveaus ziemlich fest an der Glaswand haften und sich nur nach oben wölben. Die oben gemachten Mitteilungen über ringförmige Rückstände von Niveaus deuten auch auf das Vorkommen von Anheftungen.

Außerordentlich auffallend ist auch die Zähigkeit und Elastizität, welche namentlich in dem Versuch mit dem kalten Wasser das Niveau zeigt. Es deutet dies offenbar darauf hin, daß die Organismen in dem Niveau auf irgend einem Wege oder durch irgend eine Kraft aneinanderhaften, wie ähnliches ja auch Jegunow angenommen hat.

Diese Untersuchungen sollen fortgesetzt werden — es ist noch vieles zu tun zur endgültigen Aufklärung der interessanten Erscheinungen.

---

1) Nur während der ersten 24 Stunden sieht man manchmal zwei aufeinander, in einer Entfernung von ungefähr 2 cm liegende Niveaus.

Literatur.

1893. Beijerinck, Ueber Atmungsniveaus bei beweglichen Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. No. 25.)
1894. Beijerinck, Notiz über den Nachweis von Protozoen und Spirillen im Trinkwasser. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. No. 10.)
1896. Miodowski, Untersuchungen über Beijerincks Atmungsniveaus der Bakterien. [Inauguraldissertation.] Würzburg.
1896. Jegunow, Bakteriengesellschaften. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II. 1. Artikel p. 11; 2. Artikel p. 441; 2. Artikel (Schluß) p. 478; 3. Artikel p. 739.)
1897. Beijerinck, Emulsions- und Sedimentfiguren. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. No. 1 u. 2/3.)
1897. Jegunow, Zur mechanischen Analyse der Bakterienplatte. (Centralbl. f. Bakt, Abt. II. Bd. III. No. 17—18. p. 467.)
1898. Jegunow, Die Mechanik und Typen der Teilung der Bakterienscharen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. p. 97, 175.)
1898. Jegunow, Platten aus roten und Schwefelbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. IV. p. 257.)

A peculiar microorganism showing rosette formation.

[From the Bacteriological Laboratory, University of Chicago.]

By **Mabel Jones.**

With 3 Figures.

In October, 1904, during a bacteriological examination of water and sewage, attention was attracted to a peculiar spirillum-like organism showing rosette formation. This organism was relatively abundant in each of five samples plated. The water for this examination was taken from taps of the Chicago city supply (Hyde Park); the sewage came from a sewer emptying into Lake Michigan at 56th. St., Chicago.

In this study, the culture media mainly employed were made in accordance with the recommendations of the Bacteriological Comittee of the American Public Healt Association[1]).

The characteristics of this interesting organism are as follows:

Morphology: In 24 hour old cultures on agar, the forms appear as short, rather plump „commas", averaging 1,5 μ to 3 μ in length and 0,5 μ to 0,7 μ in breadth; at times decidedly curved, often less so, but never quite straight. There is a tendency to grow into straight and spiral filaments, varying in length from two to fifteen times that of a single cell. The ends are quite pointed. Single cells often join end to end to form „S" shaped figures, or semi-circles.

There is a singular tendencey toward definite rosette formation. This manner of grouping as shown in cover slip films made from 24 to 48 hour old cultures, on agar and in peptone solution (Figs. 1 and 2), is apparently effected by a uniform grouping of the descendants of a single cell and is in no sense an agglutinative phenomenon. The single polar flagellum of each organism is pointed toward an unseen center, the flagella appearing in stained preparations of rosettes as the radial arms of a windmill to which the vanes are attached. The readiness with which the flagellum takes an ordinary stain, adds to the singularity of the picture presented by these chrysanthemum-like clusters. The rosette appearance is seemingly more favored by culture in glucose agar under anaërobic conditions (Fig. 3).

---

1) Journ. Am. Pub. Health. Vol. XXIII. January. 1898.

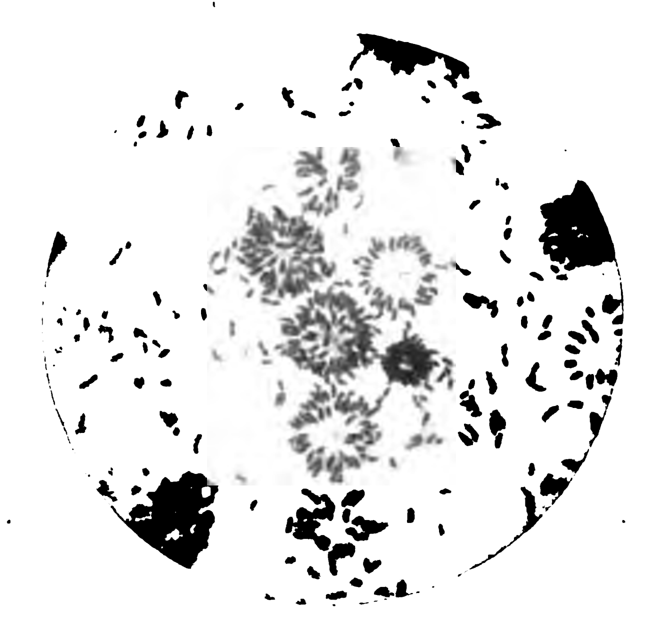


Fig. 1. Film from 24 hour Agar Cultur Gentian Violet. × 1500.

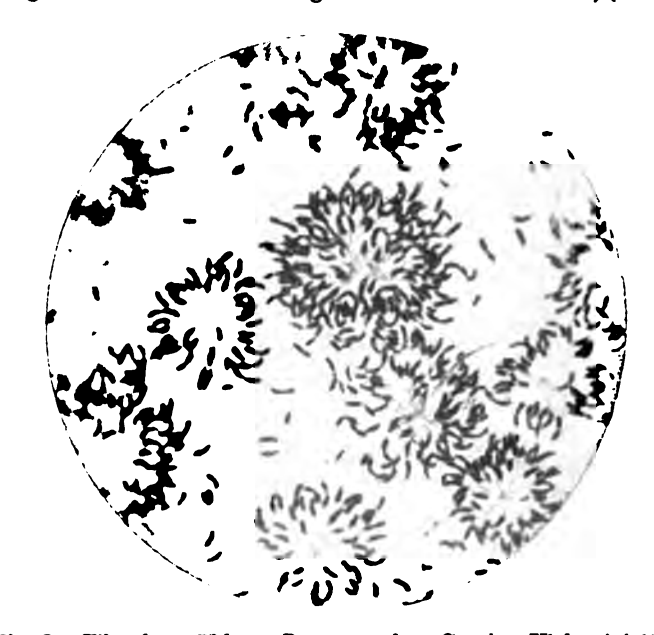


Fig. 2. Film from 72 hour Peptone cultur Gentian Violet. × 1500.

Involution forms characterized by swollen and vacuolated cells, and coccus bodies are encountered in young cultures on potato and in milk, and where these exist rosette formation does not occur. Such evidence of degeneration is conspicuous after 24 to 48 hours at 37° C.

Motility: The unattached organisms are actively motile. The single

polar flagellum varies in length from two to five times that of a single cell. The rosettes are nonmotile.

Mode of reproduction: Division occurs transversely. Spore formation has not been observed.

Staining: Staining occurs with the ordinary solutions of aniline dyes, when slightly heated; less readily with methylene blue than either gentian violet or fuchsin. The organism is decolorized by the method of Gram.

Very frequently the staining lacks uniformity; it is most uniform in films from nutrient agar. Sometimes the poles only are stained; again only a stained outline or zone can be seen. The flagellum stains well at all times. Loeffler's flagellum stain has a tendency to cause a swelling of the organism.



Fig. 3. Film from 4 day old glucose Agar culture. × 1500 Gentian Violet (Anaërobic).

Colonies in gelatin: The colonies are visible on the third day as cream-white, semi-translucent, shining, convex disks, with sharply defined contour and are of a diameter of 0,5 mm. A depression of the medium due to softening, sorrounds each conly. Under the low power of the microscope, the colonies are highly refracting and of a warm yellow tint. The deep colonies when magnifed, are rather opaque with-sharply defined rounded outlines and have a smoky gray color. After a few days, the surface colonies may attain a diameter of 1 mm, becoming decidedly elevated and appearing as minute balls or knobs on the surface of the medium. These colonies are broken up with difficulty and may be entirely removed by a needle touch, leaving but a small round depression. At the end of the tenth day, the colonies sink lower into the medium an the depression appears crateriform.

Stained preparations made from colonies on gelatin plates show innumerable rosettes and fewer single forms.

Gelatin stab culture: At the end of 24 hours at 20° C, a small, elevated, glistening, round growth is seen on the surface at the point of inoculation. The growth continues downward as a fine line along the needle track. At the end of fourteen days, the surface is distinctly pitted and liquefaction progresses slowly, till at the end of twenty-four days the upper portion of the needle track is involved. After a month one third of the medium is liquefied; the liquefied portion is turbid with a viscid creamy mass at the bottom.

Colonies on agar: In forty eight hours at 37° C, the surface colonies range from 1 to 1,5 mm in diameter. The maximum size of the colonies at the end of four days is 5 mm. They are regularly round, milk-white and glistening, showing slight elevation. After 72 hours, they develop a yellowish haziness about their borders. The deep colonies are of a yellowish color varying from round to lenticular shape. At times

the deep colonies may be observed in pairs or short chains. When examined under the low power of the microscope, the surface colonies appear as yellowish brown, coarsely granular masses, the nucleus dense with partly defined circumference surrounded by a less dense, uniformly granular zone; except for thinness at the periphery where the coarse granulation is more distinct. Just below the surface the colonies appear as uniformly dense or slightly granular, brownish yellow masses, assuming a distinctly concentric arrangement of zones. The deep colonies appear as regularly round, elliptical or triangular, dense yellow brown masses, bordered by irregular coarse granulations. As growth progresses, the markings become more and more distinct giving to the deep colonies a lobulated structure.

Agar slant: The growth after 18 to 24 hours at 37° C occurs as a luxuriant milk white streak, elevated, smooth, moist and glistening, sligthly spreading at the base of the needle track. The water of condensation in rendered slightly turbid and a white sediment is present. After six or seven days the growth becomes viscid and slightly yellow, gradually spreading from the needle track till the entire surface of the slant is covered by a thick white layer.

Glucose agar (Stab): A fresh moist surface is veiled in a blue-white, viscid, glossy growth after 24 hours at 37° C. The growth along the needle track occurs as a fine streak. After the fourth day the surface growth becomes a creamy white layer about 1 mm in thickness. No gas formation has been observed. Stained preparations show the flagellum to be greatly elongated.

On a less moist surface, a white, elevated, glistening colony about 3 mm in diameter, is formed at the point of inoculation after 24 hours at 37° C. The needle track growth appears as a fine streak.

Litmus-lactose agar (Stab): Growth is similar to that in glucose agar. At the end of two weeks the agar becomes decolorized, beginning in the depths about the third or fourth day at 37° C.

Neutral red agar (Stab): A fine streak may be seen along the line of inoculation, but no surface growth appears till the twenty-first day. No apparent alteration of the medium occurs.

Glycerin agar (Slant): Growth like that on plain agar.

Blood serum: On blood serum, made according to Loeffler, after 24 hours at 37° C, growth appears as a delicate glistening, slightly opaque line, or at times, as one or two distinct round colonies, about 3 mm in diameter. No liquefaction has been observed. Stained preparations show metachromatic granules in abundance and rosette formation.

Potato: Moist patches on the surface are the only indications of growth on this medium. Stained preparations show involution forms, barred, with swollen ends, and small semi-circular forms. There is no rosette formation.

Broth: There is uniform clouding at the end of 24 hours at 37° C. A delicate blue-white pellicle covers the surface of the medium and clings to the walls of the tube. A diffusible precipitate is formed. Hanging-drop preparations of 24 hour old cultures show abundant rosette formation.

Litmus milk: Decolorized after three weeks; color returning slowly. The medium becomes intensely alkaline at the end of 44 days and very viscid. At no time does an acid reaction appear.

Indol formation (Witte's peptone): Indol reaction is negative; even in cultures 20 days old.

Schottelius' enriching method: The spirillum was obtained in pure culture in the first flask, when mixed with B. cholerae suis, alone, or in addition with B. proteus vulgaris.

Effect of reaction of medium on growth: Media having the following reactions have been used 1,8+, 1,5+, 0,5+, 0,0, 0,5 -, 1,0—. Agar plates of 0,5+ and 0,0 reactions are most favorable to the growth of the spirillum; growth being visible after 48 hours at 37° C, and 72 hours at 20° C. Agar plates of 1,8+, 1,5+, 0,5— and 1,9— reactions show no growth at the end of 10 days; either at 37° C or at 20° C.

Fermentation: When cultivated in tubes containing media to which dextrose, saccharose, and lactose have been added, growth is abundant in open and closed arms though no fermentation with liberation of gas occurs.

Relation to gases: It is a facultative anaerobe, but in an atmosphere devoid of oxygen, growth is slower and less abundant.

Relation to temperature: Growth occurs rapidly and luxuriantly at 37° C, more slowly at 20° C.

The thermal death point was reached by an exposure to moist heat for ten minutes at 55° C, using Sternberg's bulbs.

Pathogenesis: A guinea-pig was inoculated subcutaneously with 1 cc of a broth culture of the spirillum, with no definite results. Two pigeons were used for the purpose of determining the pathogenesis of this organism, on receiving 1 cc in its pectoral muscle, the other being fed 100 cc mixed with its food, with no definite results. Twenty-four hour old broth cultures were used for these experiments.

A careful search of the literature fails to show a similarly described organism.

In conclusion, the writer wishes to thank Prof. Edwin O. Jordan and Dr. Norman Mac L. Harris for their criticisms and suggestions during the progress of this work.

Ein Beitrag zur Bakteriologie der Milch.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der Kaiserl. russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von **S. Severin** und **L. Budinoff.**

In vorliegender Mitteilung haben wir uns zur Aufgabe gestellt, die Leser mit den Versuchen bekannt zu machen, welche wir an gewöhnlicher und pasteurisierter Milch bei deren Bearbeitung zum Verkauf in der Mustermolkerei der Handelsfirma Gebrüder Blandoff in Moskau angestellt haben.

Täglich erhält die genannte Molkerei per Eisenbahn in großen Kannen Milch, deren Alter zwischen 24 und 36 Stunden schwankt. Dieselbe wird durch ein Metallnetz geseiht und durch Rinnen in Sammelbecken von 1 Kiloliter Volumgehalt geleitet. Die Reservoire sind mit doppelten Wänden versehen, zwischen welchen kaltes Wasser durchgeleitet wird. Aus den Reservoirs wird die Milch durch Röhren mittels einer Pumpe in einen aparten Raum zur Reinigung und Pasteurisation ge-

bracht. Die zur Pasteurisation bestimmte Milch gelangt aus dem Sammelreservoir in einen Erhitzer, wo sie bis auf 30° erhitzt wird, und fließt sodann in einen Separator Alpha-Laval, von großen Dimensionen. Der Separator ist mit einem Apparat versehen, welcher die Molke mit dem Rahm so durchmengt, daß aus demselben wiederum Vollmilch herausfließt.

Der Zweck der Zentrifugierung ist, die Milch von Schmutzpartikeln zu reinigen, welche an den Wänden der Zentrifuge hängen bleiben. Die zentrifugierte Milch fließt durch eine Röhre in einen Pasteurisator, wo dieselbe auf mechanischem Wege durchgemischt wird. Im Pasteurisator verbleibt die Milch ungefähr 6 Minuten bei 75° C. Aus dem Pasteurisator kommt die Milch auf Schmidtsche Kühlapparate und wird nach erfolgter Abkühlung in Flaschen abgefüllt, welche mit paraffinierten Scheibchen verkorkt werden.

Außer der pasteurisierten brachte die Firma im Jahre 1903 auch nicht pasteurisierte, sondern bloß in der Zentrifuge gereinigte Milch in den Handel. Die nicht pasteurisierte Milch passiert denselben Weg und dieselben Apparate, wie die pasteurisierte, sie passiert sogar den Pasteurisator, welcher dabei nicht erhitzt ist.

Wir haben vor allen Dingen einige quantitative aërobe Analysen der Milch in den verschiedenen Phasen ihrer Bearbeitung angestellt, um den Einfluß dieser Bearbeitung auf die Bakterienmenge in der Milch ins Klare zu bringen.

Die erste Analyse datiert vom 31. Januar 1903. Die Milchproben wurden an fünf verschiedenen Stellen entnommen, und zwar: 1) unmittelbar aus dem Sammelreservoir, 2) beim Austritt der Milch aus der Zentrifuge, 3) beim Austritt aus dem Pasteurisator, 4) nach Verlassen des zweiten Kühlers, 5) aus der Flasche, d. h. sofort nach Abfüllung der Milch in Flaschen. Aus jeder Probe wurden an Ort und Stelle in der Molkerei je 4 Petri-Schalen auf verschiedenen Nährmedien angefertigt, auf Fleischpeptonagar und -gelatine, sowie auf Milchgelatine und -agar. Somit hatte die erste Analyse den Zweck, die Bakterienmenge in derjenigen Milchpartie festzustellen, welche pasteurisiert wird. Der Zweck der zweiten Analyse (7. Februar) war die Untersuchung nicht pasteurisierter, sondern nur durch den Separator passierter Milch. Bei der zweiten Analyse haben wir vier Milchproben entnommen: 1) aus dem Reservoir, 2) nach Austritt aus der Zentrifuge, 3) nach Verlassen des zweiten Kühlapparates, 4) aus den Metallgeschirren, welche zur Füllung der nicht pasteurisierten Milch verwendet werden.

Das numerische Resultat dieser beiden Analysen, sowie auch sämtlicher nachfolgender ist in der beigefügten Tabelle 1 verzeichnet, wobei die Bakterienzahl auf 1 ccm Milch berechnet ist. Betrachtet man die obere horizontale Ziffernreihe, so sieht man, daß bei der ersten Analyse in 1 ccm untersuchter Milch 4192084—7414839 Keime vorgefunden wurden. Diese Menge muß entschieden als eine sehr bedeutende betrachtet werden; bei der zweiten Analyse hatten wir es bereits mit einer an Bakterienkeimen etwas ärmeren Milch zu tun, und zwar enthielt dieselbe im Durchschnitt 3082565 Keime in 1 ccm. Um nicht zurückzukommen auf die Bakterienzahl in der nach Moskau gebrachten Milch, sollen hier auch die übrigen Analysen angeführt werden. Bei der dritten wurde eine Milch mit einem Keimgehalt von 3713434, und endlich bei der vierten Analyse von 101133 pro 1 ccm untersucht. Im

Tabelle 1.

	31. Januar 1903					
	Fleisch-pepton-agar	Fleisch-pepton-gelatine	Milch-agar	Milch-gelatine	Durch-schnitts-zahl	Prozent der ursprüngl. Zahl
Milch aus dem Reservoir	4 192 084	4 821 674	—	7 414 869	5 476 208,3	100
Nach Austritt aus dem Separator	7 436 385	14 996 734	6 998 800	10 624 258	10 014 044,2	182,8
Nach Austritt aus dem Pasteurisator	1 560	140	—	60	586,6	0,017
Nach dem zweiten Kühler	2 200	2 220	10 790	1 500	4 177,7	0,076
Aus der Flasche	6 130	8 980	43 560	8 200	16 717,7	0,030
„ „ Kanne						

	7. Februar 1903					
	Fleisch-pepton-agar	Fleisch-pepton-gelatine	Milch-agar	Milch-gelatine	Durch-schnitts-zahl	Prozent der ursprüngl. Zahl
Milch aus dem Reservoir	224 735	199 764	447 695	360 832	308 256,5	100
Nach Austritt aus dem Separator	653 459	650 495	—	842 926	715 626,6	232,1
Nach Austritt aus dem Pasteurisator						
Nach dem zweiten Kühler	656 536	537 376	930 644	919 151	760 926,7	246,8
Aus der Flasche						
„ „ Kanne	582 003	503 173	613 767	1 067 821	691 691	224,4

	25. März 1903									
	Fleischpeptonagar		Fleischpeptongelat.		Milchgelatine		Durchschnittszahlen		Prozent α	
	α	β	α	β	α	β	α	β	α	β
Milch aus dem Reservoir	3 868 511	3 844 820	3 417 622	4 669 682	3 891 402	2 288 437	3 726 145	3 700 723	100	99,3
Nach Austritt aus dem Separator	4 506 872	4 467 694	6 203 352	7 812 880	5 585 306	5 506 647	5 431 843	5 929 074	145,7	159,1
Nach Austritt aus dem Pasteurisator	1 200	1 140	160	360	80	80	460	526	0,012	0,014

	2. Mai 1903									
	Fleischpeptonagar		Fleischpeptongelat.		Milchagar		Durchschnittszahlen		Prozent γ	
	δ	γ	δ	γ	δ	γ	δ	γ		γ
Milch aus dem Reservoir	180 800	166 800	64 000	68 400	56 400	72 400	100 400	101 866	100	101,4
Nach Austritt aus dem Erhitzer	139 600	142 800	86 400	88 800	75 600	68 400	100 533	116 666	100,1	114,5
Nach Austritt aus dem Separator	231 600	317 200	202 400	242 400	111 600	143 200	181 866	234 400	181,1	233,4

Durchschnitt waren die Schwankungen der Art, daß die Milch vom 2. Mai 54,5mal ärmer an Mikroben war als die vom 31. Januar.

Wenden wir uns nun der zweiten horizontalen Zahlenreihe unserer Analysen zu, so sehen wir, daß nach Verlassen des Separators die Bakterienzahl in der Milch nicht nur nicht abgenommen hat, sondern merklich gestiegen ist. In Prozenten betrug dieser Zuwachs 82,8—132,1 Proz. Eine derartige Zunahme der Bakterienzahl bei der Passage der Milch durch Zentrifuge, Erhitzer und Pumpe war im höchsten Grade unerwartet. Nimmt man an, daß dem Separator überhaupt eine unbedeutende Rolle in der Verringerung der Bakterienzahl in der Milch zukommt, so müßte dennoch sein Wert dabei ein positiver, aber keineswegs ein negativer sein. Wodurch ist nun ein so starker numerischer Zuwachs der Bakterienflora bedingt? Wir konnten denselben nicht durch Verunreinigung aus der Luft und den Apparaten erklären, denn diese ist nicht groß, wie man das schon aus der Zunahme der Bakterienzahl in 1 ccm pasteurisierter Milch bei deren Passage durch die Kühlapparate, Röhren bis zu den Flaschen sehen kann. Dieser Zuwachs ist äußerst schwach, er kommt auf hunderte, Maximum tausende Mikroben heraus, wie das weiter unten ersichtlich sein wird. Diese hunderte und tausende Mikroben müssen unter den Millionen und Hunderttausenden der ursprünglichen Flora verschwinden. Als dieser Zuwachs der Bakterienmenge zum Vorschein kam, stellten wir zur Erklärung derselben zwei Hypothesen auf: 1) daß die Probe aus dem Behälter mißglückt ist, d. h. daß dieselbe nicht die Durchschnittsmilch repräsentierte, sondern zufällig in 1 ccm eine geringere Keimzahl enthielt; 2) daß in dem Zeitraum zwischen der Probeentnahme aus dem Reservoir und nach der Zentrifugierung, welcher bei der ersten Analyse $^1/_2$ Stunde ausmachte, worunter die Milch 2 Minuten im Erhitzer und in der Zentrifuge bei 30° verweilte, eine natürliche Vermehrung der Mikroben vorgegangen ist, wodurch eben der Gesamtgehalt derselben in 1 ccm erhöht wurde. Indessen machte die abermalige Steigerung des Mikrobengehalts bei der Passage der Milch durch die Apparate auch bei dem zweiten Versuche am 7. Februar die oben ausgesprochenen zwei Hypothesen recht hinfällig. In der Tat, will man auch hier von einer mißglückten Durchschnittsprobe sprechen, so kann man darauf bereits nicht so leicht eingehen, in Anbetracht der Wiederholung dieses Umstandes. Will man nun die Zunahme der Bakterienmenge auf ihre natürliche Vermehrung zurückführen, so erscheint für die zweite Analyse eine derartige Interpretierung als weniger wahrscheinlich als für die erste, denn bei der zweiten Analyse wurden sämtliche Proben gleichzeitig entnommen.

Die folgende Horizontalreihe der Tabelle 1 zeigt die Bakterienmenge pro 1 ccm Milch sofort nach Austritt derselben aus dem Pasteurisator. Die Milch enthält 1560—60 Mikroben. Die übrigen Zahlen bezeugen, daß dieser Pasteurisationseffekt auch bei den weiteren Milchoperationen standhält, d. h. die den Kühlapparat verlassende und in Flaschen gefüllte Milch enthält bloß zehntel und hundertstel Prozente der ursprünglichen Bakterienmenge in der Milch. Doch richten wir ein Augenmerk darauf, daß je weiter die Milch sich vom Pasteurisator entfernt, desto größer ihre Verunreinigung wird. Die Ursache davon liegt natürlich an den Röhren, Rinnen, welche die Milch passiert, und an den großen Oberflächen der Schmidtschen Kühlapparate. Bei alledem läßt sich einsehen, daß diese Verunreinigung bloß Hunderte und Tausende Mikro-

ben pro 1 ccm ausmacht, dieselben verlieren sich ganz in den Hunderttausenden nicht pasteurisierter Milch, wie wir das bei der zweiten Analyse sehen.

In der pasteurisierten und in Flaschen gefüllten Milch erhielten wir 43560—6130 Keime pro 1 ccm. Nach den neuesten Daten N. Schwellengrebels[1]) kommt in Amsterdam aus den Molkereien pasteurisierte Milch mit dem verschiedensten Bakteriengehalt in den Handel. Folgende Zahlen werden für neun Anstalten angeführt: 49875, 795, 939, 8887, 11400, 6378, 290, 44490 pro 1 ccm. Die Schwankungen im Verlaufe einiger Tage bei verschiedenen Anstalten waren gleichfalls sehr groß. Autor nahm 3—4 Tage alte Milch aus verschiedenen Anstalten und analysierte dieselbe, die Zahlen schwankten von 1480—0 und von 300—20662.

Die dritte Analyse (25. März) diente zur Klärung, ob die Durchschnittsprobe der Milch aus dem Reservoir richtig entnommen wurde, und ob die natürliche Vermehrung der Mikroben auf die Keimzahl in der Milch einen Einfluß ausübt. Bei dieser Analyse wurden Proben entnommen: 1) aus dem Reservoir, 2) nach Austritt aus der Zentrifuge, 3) nach Austritt aus dem Pasteurisator; dabei wurden an jeder der genannten Stellen Proben je 2mal entnommen. Die ersten drei Proben (α) wurden gleichzeitig 19 Minuten nach erfolgter Einführung der Milch in die Apparate entnommen. Zum zweitenmal entnahmen wir an denselben Stellen Proben (β) nach Verlauf von 11 Minuten. Die Verbindungsröhren zwischen den Apparaten wurden bei dieser Untersuchung vor der Arbeit mit heißem Wasserdampf gereinigt. Während der ganzen Zeit des Eingießens der Milch in das Reservoir und im Laufe des ganzen Versuches wurde die Milch sorgfältig durchgerührt. Die Temperatur des Reservoirs betrug $10^1/_2$ ° C.

Vor allen Dingen fällt es in unserer Tabelle auf, daß die Proben α und β aus dem Reservoir fast ein und dieselbe Bakterienzahl per 1 ccm ergeben. Mit anderen Worten: 1) die Milch in dem Reservoir war gut durchgemischt, 2) in dem Zeitintervall von 11 Minuten zwischen der Entnahme der ersten und zweiten Probe hat die Bakterienzahl im Reservoir infolge natürlicher Vermehrung nicht merklich zugenommen. Weiter erwies sich die Milch sowohl in der Probe α als auch in der Probe β nach Austritt aus dem Separator mehr durch Mikroben verunreinigt als in dem Reservoir. Nun konnten wir bereits diese Verunreinigung weder durch unrichtige Probeentnahme, noch durch natürliche Vermehrung der Mikroben erklären. Es erwachte die leise Vermutung, ob nicht auf die Vermehrung besonders jene zwei Minuten günstig einwirken, welche die Milch während ihrer Passage durch den Erhitzer und Separator bei der Temperatur von 30° C verweilt. Behufs einer Klärung dieser Frage stellten wir an Ort und Stelle, in der Molkerei, am 25. März folgenden einfachen Versuch an:

Gleichzeitig mit der zweiten Probe aus dem Reservoir entnahmen wir noch eine, aber am entgegengesetzten Ende desselben, von derjenigen Stelle gerechnet, wo die zweite Probe entnommen worden war. Nach Ausführung von Aussaaten wurde diese Probe schnell bis auf 30° C erwärmt (bis dahin stand dieselbe in Eiswasser), so 2 Minuten lang gehalten und dann wiederum einer quantitativen Analyse unterworfen. Das numerische Resultat zeigt Tabelle 2.

1) Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde. 1904.

Tabelle 2.

	Fleischpepton-agar	Fleischpepton-gelatine	Milch-gelatine	Durchschnittszahl
Dritte Probe aus dem Reservoir	3 535 296	3 793 394	3 567 522	3 632 070
Dieselbe nach 2 Min. bei 30° C	3 273 252	4 014 224	3 769 282	3 669 282

Diese Tabelle beweist, daß unsere Vorstellung von dem etwaigen Einfluß der hohen Temperatur auf die Vermehrung wegfällt. Wenn diese Probe auch einen geringen Zuwachs der Bakterienzahl aufweist, so ist derselbe doch so gering, daß er ganz und gar auf Kosten der gewöhnlichen Schwankung der numerischen Resultate der bakteriologischen Analyse gestellt werden kann. Andererseits gestattet uns diese Analyse der dritten Milchprobe aus dem Reservoir, abermals darauf hinzuweisen, daß die von uns vorgenommene Durchmischung vollkommen ihren Zweck erreicht hat.

Somit haben sich alle unsere Hypothesen nicht bewahrheitet, es blieb für uns unerklärlich, weshalb in der Milch nach der Passage durch Pumpe, Erhitzer und Separator der Bakteriengehalt zugenommen hat. Behufs einer Zergliederung dieser Frage und Feststellung dessen, welcher Teil dieses Apparatensystems die Hauptrolle bei der Verunreinigung der Milch spielt, haben wir am 2. Mai folgenden Versuch angestellt. Milchproben entnahmen wir: 1) aus dem Reservoir, dessen Temperatur $6^1/_2{}^0$ C betrug und in welchem die Milch fortwährend durchgerührt wurde, 2) nach Austritt der Milch aus dem Erhitzer, 3) nach Austritt aus dem Separator. Ebenso wie bei dem Versuche vom 25. März entnahmen wir die Proben an ein und denselben Stellen 2mal und dabei in jedem einzelnen Falle gleichzeitig. Die zweiten drei Proben (δ) wurden 15 Minuten nach den ersten (γ) entnommen. Bei dieser Analyse wurde besonders auf die Reinigung der Apparate und Röhren, welche von der Milch passiert werden, Wert gelegt. Eine Besichtigung sämtlicher auseinandergenommener Apparate erwies, daß dieselben in unbedingt reinem Zustande waren. Darauf wurde das System wieder zusammengefügt und mit heißem Wasserdampf ausgewaschen. Aus den Zahlen des Versuches vom 2. Mai in Tabelle 1 sieht man, daß für die beiden zweiten Proben der Bakteriengehalt dieselbe Zahl aufweist, wie für Milch aus dem Reservoir. Dieser Zuwachs um 14 Proz. ist so gering, daß wir ihn teils auf Rechnung von Fehlerquellen der Analyse, teils auf Rechnung von Verunreinigung aus der Luft setzen. Diese geringe Verunreinigung den Wänden der Apparate und Röhren zur Last zu legen, ist unmöglich, nach der vorgenommenen sorgfältigen Reinigung derselben. Dabei hätte diese Verunreinigung mehr in der ersten Probe nach Austritt aus dem Erhitzer zum Vorschein kommen müssen, weil die erste Portion sämtliche Teile der Apparate bespült hat. In Wirklichkeit war dem jedoch nicht so.

Ein ganz anderes Resultat wurde durch eine Analyse der nach Austritt aus der Zentrifuge entnommenen Proben erzielt. Die Zahlen unserer Tabelle zeigen, daß die den Separator verlassende Milch um 81—133 Proz. mehr Mikroben enthält als die Milch im Reservoir. Mit anderen Worten, die Milch wird bei der Passage durch die Apparate eben im Separator verunreinigt, und die sorgfältigste Reinigung der Apparate ist nicht im stande, diese Verunreinigung zu verhüten. Weder Erhitzer noch Pumpe beeinflussen auf merkliche Weise den Mikroben-

gehalt der Milch. Dieser steigt in der Zentrifuge. Wir haben bereits oben dargelegt, daß dieser Zuwachs weder auf Rechnung von Verunreinigung aus der Luft und den Apparaten, noch auf Rechnung von natürlicher Vermehrung der Mikroben bei 30° C im Verlaufe von 2 Minuten gestellt werden kann. Diese interessante Erscheinung erforderte behufs ihrer Klärung eine besondere Untersuchung eines von uns, deren Ergebnis in dieser Zeitschrift veröffentlicht werden wird. Wir werden einstweilen das Wesen dieser Erscheinung nicht berühren, sondern konstatieren nur das Faktum der Verunreinigung der Milch bei ihrer Passage durch die Zentrifuge Alpha-Laval.

Nun wollen wir uns unseren Versuchen über Konservierung pasteurisierter und nicht pasteurisierter Milch zuwenden. Im ganzen wurden zwei solcher Versuche angestellt, davon der erste am 15. Dezember 1903, der zweite am 19. Januar 1904. Bei dem ersten Versuche entnahmen wir 15 Minuten nach Einführung der Milch in die Apparate eine Probe nach Austritt aus dem Pasteurisator, dessen Temperatur 70° C betrug, und machten aus derselben Aussaaten. Darauf entnahmen wir nach Verlauf der folgenden 15 Minuten Proben aus zwei aufs Geratewohl ausgewählten Flaschen vor ihrer Verkorkung. Beide Flaschen brachten wir aus der Molkerei ins Laboratorium, wo wir die eine bei 9—11° C, die andere bei 16—18° C aufbewahrten. Nach 27 Stunden analysierten wir wieder die Milch in den Flaschen. Bei dem folgenden Versuche entnahmen wir Proben: 1) aus dem Reservoir, 2) unmittelbar nach Austritt aus dem Pasteurisator, 15 Minuten nach Beginn der Arbeit (Temperatur 75° C), 3) nach Verlauf von 20 Minuten aus der im Laboratorium bei 9—11° C aufbewahrten Flasche, das ist ungefähr die Temperatur, bei welcher die Milch in den Milchbuden gehalten wird. Außer dieser pasteurisierten Milch brachten wir aus dem Reservoir in einen sterilen Kolben nicht pasteurisierte Milch und hielten dieselbe bei 9—11° C. Die Milch in der Flasche und im Kolben analysierten wir nach 4, 14 und 27 Stunden. Die Ergebnisse sämtlicher Analysen haben wir in der Tabelle 3 vereinigt.

In dieser Tabelle richten wir vor allem die Aufmerksamkeit des Lesers darauf, wie veränderlich der Bakteriengehalt in 1 ccm Milch nach Austritt derselben aus dem Pasteurisator ist. Bei der ersten Analyse war die Bakterienzahl = 1406, bei der zweiten = 2082; man erinnere sich, daß bei den früheren Analysen in diesen Milchportionen die Bakterienzahl 526, 420 u. s. w. betrug.

Bei dem ersten Versuche enthielt die Milch in der Flasche über 4mal mehr Keime als in nächster Nähe des Pasteurisators, bei dem zweiten Versuche 8mal mehr. Es liegt auf der Hand, daß die Milch am 14. Januar sehr stark aus der Luft und aus den Apparaten verunreinigt wurde. Was die Bakterienzahl in der pasteurisierten Milch nach 27 Stunden anbelangt, so waren in derjenigen, welche bei 9—11° C stand, bei beiden Versuchen bereits hunderttausende Bakterien. Mit anderen Worten, bei dem ersten Versuche stieg die Bakterienzahl in der pasteurisierten Milch nach 27 Stunden auf das 158-fache, bei dem zweiten aber nur auf das 9-fache. In der Milch, welche bei 16—18° C stand, stieg die Flora auf das 1306-fache. Daraus erhellt, daß bei Erhöhung der Aufbewahrungstemperatur um 7° C die Bakterienzahl bei unserem Versuche auf das 8-fache gestiegen ist.

In der nicht pasteurisierten Milch ist die Bakterienzahl nach 27

Tabelle 3.

15. Dezember 1903

		Nach dem Pasteurisieren	1. Flasche nach der Füllung	2. Flasche nach der Füllung	1. Flasche nach 27 Stunden 9—11° C	2. Flasche nach 27 Stunden 16—18° C	
Pasteurisierte	Fleischpeptonagar	3320	11 900	11 440	931 087	9 493 720	
	Gelatine	200	1 980	1 780	695 001	6 785 197	
	Milchagar	700	5 000	4 800	1 203 180	7 245 729	
	Durchschnittszahl	1406	5 960	6 000	943 089	7 841 548	
	Prozent der ursprünglichen Anzahl	**100**	**423**	**426**	**67 076**	**557 791**	

19. Januar 1904

		Aus dem Reservoir	Nach dem Pasteurisieren	Aus der Flasche	Aus der Flasche nach 4 Stunden	Aus der Flasche nach 14 Stunden	Aus der Flasche nach 27 Stunden
Pasteurisierte	Fleischpeptonagar	234 000	450	7 200	7 700	30 800	66 000
	Fleischpeptongelatine	595 000	885	6 300	13 602	49 285	88 400
	Milchagar	573 000	4912	43 357	42 507	169 136	336 000
	Durchschnittszahl	467 333	2082	18 951	21 269	83 073	163 466
	Prozent der ursprünglichen Anzahl	**100**	**0,44**	**4,05**	**4,54**	**17,77**	**34,09**

		Milch, eben aus dem Reservoir in einen Kolben gebracht			Nicht pasteurisierte Milch nach 4 Stunden	Nicht pasteurisierte Milch nach 14 Stunden	Nicht pasteurisierte Milch nach 27 Stunden
Nichtpasteur.	Fleischpeptonagar	234 000			256 000	1 928 000	7 991 488
	Fleischpeptongelatine	595 000			766 070	4 628 416	28 341 742
	Milchagar	573 000			526 223	3 279 418	22 292 870
	Durchschnittszahl	467 333			526 223	3 278 611	19 542 016
	Prozent der ursprünglichen Anzahl	**100**			**112,6**	**701,5**	**4180,5**

Stunden auf das 119-fache gestiegen. Es sei bemerkt, daß in Bezug auf Aussehen und Geschmack sämtliche Proben nicht zu unterscheiden waren und den Eindruck von vollkommen frischer Milch machten.

Zugleich mit den quantitativen Analysen wurden bei den obengeschilderten Versuchen vom 15. Dezember 1903 und 19. Januar 1904 auch qualitative ausgeführt, um wenigstens in allgemeinen Zügen den Charakter der Bakterienflora der Milch in den verschiedenen Phasen ihrer Bearbeitung und Konservierung zu bestimmen.

Die Ergebnisse der quantitativen Analysen bei dem ersten Versuche waren folgende: In der eben aus dem Pasteurisator ausgetretenen Milch wurden acht verschiedene Bakterienspecies vorgefunden, darunter fünf stäbchenförmige. Von allen diesen Bakterien bildeten nur zwei Endosporen, peptonisierten Gelatine, koagulierten und peptonisierten Milch bei alkalischer Reaktion. Die übrigen, ausgenommen ein die Gelatine schwach verflüssigendes Stäbchen, veränderten die Milch nicht in merklicher Weise. Sporenformen waren durchaus nicht in überwiegender Anzahl vorhanden. Die in Flaschen gefüllte Milch enthielt anstatt der früheren 8 Arten bereits 14, wovon 6 gemeinsam mit der früher analysierten Milch waren. Unter den neuen Arten waren 6 stäbchenförmige, wovon 3 Arten die Milch veränderten, 2 koagulierten und peptonisierten, 1 nur koagulierte (Bac. lactis acidi). Von den sporenbildenden Arten wurde nur eine mit der ersten Analyse identische vorgefunden, aber solche Kolonieen gab es nur wenige. Weit einförmiger ist die Milchflora nach 27 Stunden, wobei ein Unterschied zwischen den zwei Portionen, welche, wie bekannt, bei verschiedenen Temperaturen standen, fast gar nicht vorhanden war. In größerer Anzahl gab es hauptsächlich zwei kurze Stäbchen, welche die Milch nicht veränderten und die Gelatine nicht verflüssigten. Das eine von diesen, anscheinend B. lactis innocuus, wurde auch in der soeben in Flaschen gefüllten Milch vorgefunden, wo wir eine geringe Anzahl von Keimen desselben zählen konnten. Das andere, dem ersteren äußerst nahe stehende, wurde zum erstenmale angetroffen. Sodann war in der 27-stündigen Milch in bedeutend geringerer Anzahl ein drittes, ebenfalls zur Gruppe des B. aërogenes gehörendes Stäbchen, welches die Milch mit Gasbildung koaguliert und auf Milchzuckergelatine Gas entwickelt. Diese Species wurde gleich der vorangehenden zum erstenmal angetroffen, die übrigen Mikroben aber der 27-stündigen Milch waren identisch mit den bei den vorangegangenen Analysen vorgefundenen, ihre Quantität war im Vergleich zu den oben genannten drei Stäbchen eine verschwindend kleine.

Bei dem zweiten Versuche vom 19. Januar wurden in der unmittelbar aus dem Reservoir entnommenen Milch 13 verschiedene Bakterienarten vorgefunden, 9 Stäbchen- und 4 Kokkenformen. Von den ersteren verflüssigten 3 die Gelatine, 2 bildeten Endosporen und peptonisierten die Milch, 2 produzierten Milchsäure in Milch. Von den Kokken verflüssigte die Hälfte Gelatine, einer koagulierte und peptonisierte Milch; alle übrigen Mikroben hatten auf Milch gar keinen Einfluß. Am zahlreichsten war B. lactis acidi. Nach Verlauf von 14 Stunden hatte sich die Zusammensetzung der Bakterienflora dieser Milch wenig verändert. Wie zuvor waren in überwiegender Mehrheit die Erreger des Milchsäureprozesses vorhanden.

In der unmittelbar nach Austritt aus dem Pasteurisator entnommenen Milch blieben 6 Bakterienarten; sie alle waren, mit Ausnahme eines auf

verschiedenen Nährmedien schlecht wachsenden Coccus, auch in der Milch aus dem Reservoir vorgefunden. Zwei Stäbchen bildeten Sporen, peptonisierten Milch und verflüssigten Gelatine, die übrigen waren der Milch gegenüber indifferent. Wie auch bei der vorangegangenen Analyse, gab es sporenbildende Formen bedeutend weniger als andere. In frischer Flaschenmilch fanden wir 9 Bakterienarten, 4 identisch mit früher gefundenen. Von allen neun Arten bildeten zwei von uns bereits auch früher gefundene Stäbchen Sporen, nur diese beiden Arten verflüssigten Gelatine und peptonisierten Milch. Unter den übrigen gab es zwei Milchsäuremikroben. In der nämlichen pasteurisierten Milch blieb nach 14 Stunden das Bild im allgemeinen das gleiche wie in frisch gefüllter, irgend ein Prävalieren der einen Art über die anderen, wie wir das bei der ersten Analyse konstatiert haben, existierte nicht. Sporenbildende Arten gab es wenige.

Aus dieser kurzen Uebersicht unserer Analysen verschiedener Milchproben haben wir, wie uns scheint, die Möglichkeit, folgende Schlüsse zu ziehen. In pasteurisierter Milch werden sporenbildende und zugleich Milch peptonisierende Arten in der Minderheit angetroffen, eine weit größere Keimzahl fällt auf die sporenlosen, gegen Milch indifferenten Formen. Milchsäuremikroben gibt es in der Milch sofort nach der Pasteurisation nicht. Auf ihrem Wege von dem Pasteurisator bis zur Füllung in Flaschen wird die Milch zuerst durch Milchsäurebakterien verunreinigt. Unter den verunreinigenden Mikroben haben wir kein einziges Mal sporenbildende vorgefunden. In der Folge. bei Konservierung der pasteurisierten Milch bei 9—11° C bis zu 14—27 Stunden spielen die sporenbildenden Arten keine wesentliche Rolle, mit größter Energie entwickeln sich augenscheinlich die verunreinigenden Mikroben. Es liegt auf der Hand, daß die Pasteurisation auf die einen Arten abtötend, die anderen am Leben lassend, auf letztere so deprimierend einwirkt, daß dieselben, wenigstens in dem Zeitraum von 27 Stunden, nicht im stande sind, in Schnelligkeit der Vermehrung mit den verunreinigten Mikroben zu konkurrieren, welche der ungünstigen Einwirkung einer hohen Temperatur nicht ausgesetzt waren. Zu dieser Schlußfolgerung führt uns unter anderem auch die Beobachtung an Plattenaussaaten, und zwar entwickeln sich die Kolonieen auf den Platten, welche mit sofort nach der Pasteurisation entnommener Milch geimpft sind, äußerst langsam im Vergleich zu den Kolonieen auf mit anderen Milchportionen geimpften Platten.

A comparative study of sixty-six varieties of gas producing bacteria found in milk.

By **F. C. Harrison,**

Director, Bacteriological Department, Ontario Agricultural College and Experiment Station, Guelph, Canada.

With one table.

(Conclusion.)

Thermal relations. The thermal death point was determined by Sternberg's method in whey peptone bouillon. The effect of a hot 2 % soda solution (washing soda) and a hot 2 % solution of an ammonia washing powder were also tried with the following results:

Thermal death point.

No. of variety	10 minutes at				10 minutes in 2 % ammonia solution at		10 minutes in 2 % sodium carbonate solution at	
	55° C	58° C	60° C	63° C	50° C	60° C	50° C	60° C
1g	+	—	—	—	—	—	—	—
1h	+	—	—	—	—	—	+	—
2f	+	+	+	—	—	—	+	—
5	+	—	—	—	—	—	—	—
7	+	+	—	—	—	—	+	—
10e	—	—	—	—	+	—	+	—
13	+	—	—	—	—	—	+	—
14	+	+	—	—	—	—	—	—
15bx	+	+	—	—	—	—	—	—
15c	—	—	—	—	+	—	—	—
17by	+	+	—	—	—	—	—	—
18	—	—	—	—	+	—	—	—
22a	—	—	—	—	—	—	—	—
29a	+	—	—	—	—	—	—	—
37	—	—	—	—	—	—	—	—

+ = Living. — = Dead.

The bacteria selected were taken as representatives of gas producing bacteria isolated from milk, water, and flies.

Growth of Bacillus lactis aërogenes at 40° F (4,4° C).

On the 26th of November, 50 ccm of sterilized milk was inoculated with 2 oesen of a 24 hour old bouillon culture of Bacillus lactis aërogenes, and plates made from this mixture gave 240 colonies per oese. Seven days later this milk, kept at 40° F was again examined and showed 110 colonies per oese and at the same time one drop of the milk was diluted in 12 ccm of sterilized water and one colony per ccm of this mixture developed. Twenty days later, the temperature being the same, 29 colonies per ccm developed. The flask was then transferred to the incubator at 27° C, and gas production and coagulation occurred in 48 hours. This experiments has been repeated many times with gas-producing bacteria and also with B. acidi lactici and with similar results, that is, there was no increase in the numbers of bacteria in milk held at 40° F (4,4° C).

Immunization and agglutination.

In order to ascertain the agglutinating properties of the different varieties described in this paper, two rabbits were immunised; one with a colon type (No. 35) and another with an aërogenes type (No. 13).

The immunization was carried on as follows: Male rabbit, weight 1430 g, immunized with variety No. 13. 31. X. Subcutaneous inoculation of 6 ccm of a 24 hour old bouillon culture heated for 10 minutes at 62° C. 5. XI. Weight 1420 g. No local reaction. 8 ccm of a heated culture inoculated. 13. XI. Weight 1400 g. 1,5 ccm living and 1,5 dead culture inoculated. 23. XI. Weight 1430 g. 8 ccm living 24 hour old bouillon culture inoculated. 4 XII. Weight 1465 g. Over the site of the two previous injections the skin was slightly thickened and painful. 15 ccm of living culture inoculated. 13. XII. Weight 1530 g. 15 ccm of living culture inoculated. 19. XII. Weight 1530 g. The thickening of the subcutaneous tissue was still noticeable. A small

amount of blood was taken from the ear in order to ascertain the agglutinating power of the serum with the special variety, No. 13. The results were as follows: 1:120, complete agglutination; 1:750, partial agglutination; 1:1500, no agglutination. 28. XII. The rabbit had now received 15,5 ccm of heated culture and 39,5 ccm living culture, altogether 55 ccm, and on 22. XII. blood was obtained from the right vena jugularis and the serum was transferred to sterile test tubes and again tested with the following results: 1:100, complete agglutination; 1:250, 1:500, and 1:1000, marked agglutination; the media, however, not perfectly clear.

31. X. A male rabbit, weight 1780 g, was subcutaneously inoculated with 6 ccm of a 24 hour old bouillon culture of variety No. 35, heated to 58° C for 10 minutes. 5. XI. Weight 1700 g. 8 ccm of dead culture inoculated. 13. XI. Weight 1670 g. No local reaction. 1,5 ccm living and 1,5 ccm dead culture inoculated. 23. XI. Weight 1730 g. 8 ccm living culture inoculated. 4. XII. Weight 1830 g. Slight thickening of the skin and subcutaneous tissues at the seat of inoculation. 15 ccm living culture inoculated. 19. XII. A small amount of blood was taken from the ear in order to test the agglutinating power with the special variety (No. 35). Results: 1:100, partial agglutination: 1:700, partial agglutination; 1:1400, traces only. 24. XII. Weight 1850 g. 15 ccm living culture inoculated. 2. I. Weight 1870 g. Amount inoculated to date, dead culture 15,5 ccm, living culture 54,5 ccm, total 70 ccm. About 12 ccm of blood was obtained from the left vena jugularis. The serum with variety No. 35 tested as follows: 1:100, marked agglutination; 1:250, 1:500, and 1:1000, partial agglutination.

Remarks on the agglutination of the varieties.

Cultures were made in small test tubes containing Dunham's solution. They were kept for 24 hours at 37° C and at the end of this time they showed diffuse turbidity and the serum was then added. For the first dilution one drop of serum was added to 4 ccm of culture. The pipette used in this work delivered exactly 25 drops to the ccm so that this first dilution of serum was 1:100. Three other dilutions, 1:250, 1:500 and 1:1000, were also made. After the addition of the serum the test tubes were well shaken and then placed in the incubator at a temperature of 37° C and observed at the end of 5 and 10 hours. The sign + is used to designate complete agglutination. That is to say, the medium became perfectly clear and all the bacteria were clumped and settled to the bottom of the tube. The bacterial clumps were usually large and flocculent. The sign ±! is used to designate marked agglutination, i. e. formation of clumps and flocculent masses which settled on the bottom and walls of the tube. The sign ± is used to indicate clumping of the bacteria and the formation of flocculent masses at the bottom or on the sides of the tube but the medium was not perfectly clear. A microscopic examination of all those marked ±! and ± was made in order to control the macroscopic test. The varieties marked — gave no reaction. Varieties 9h and 12 showed marked spontaneous agglutination. The two varieties tested gave the strongest reaction with their homologous sera, but it is interesting to note that the serum from the rabbit immunized with No. 35 agglutinated variety No. 13 to a marked extent. The aërogenes serum agglutinated 21 varieties; the colon serum 25, but more than half of both kinds of sera gave no reaction.

These results seemed to show that the agglutination test has only a very limited value for the diagnosis of closely related varieties of B. coli and B. lactis aërogenes. a conclusion which several investigators have also arrived at with other species of bacteria.

Cheese experiments.

5. X. The first cheese was made on the 5th of October 1 litre of a 24 hour old milk culture of 24a was mixed in 150 litres of milk. The culture was acid, very gassy, with a bitter and astringent taste. The cheese curd was very gassy, floating on the top of the whey.

After making, the cheese was put into the curing room (average temperature 55° F) and bacteriological analyses made from time to time.

1st analysis, 28th October. Age of cheese, 21 days.

Total number of bacteria per g. 164000000
Number of gas-producing bacteria 126000000
Percentage of gas producers 76,8.

2nd analysis, 4th November. Age of cheese, 30 days.

Total number of bacteria per g. 102000000
Gas-producing bacteria 71000000
Percentage of gas producers 69,6.

3rd analysis, 12th November. Age of cheese 38 days.

Total number of bacteria per g. 96000000
Gas-producing bacteria 69000000
Percentage of gas producers 71,8.

4th analysis. Age of cheese 45 days.

Total number of bacteria per g. 43000000
Gas-producing bacteria 27000000
Percentage of gas producers 62,7.

5th analysis, 26th November. Age of cheese 52 days.

Total number of bacteria per g. 54000000
Gas-producing bacteria 6000000
Percentage of gas producers 11,1.

The cheese showed white and gray lines and spots, an appearance known amongst cheesemakers as "Mottled".

The gas-producing germs grew more coli-like, flat and not prominent.

6th analyses, 4th December. Age of cheese 60 days.

Total number of bacteria per g. 40000000
Gas producers 1000000
Percentage of gas producers 2,5.

The cheese smelt like rotten meat, the gas producers again grew more prominently but the size of the colony was small.

7th analysis, 17th December. Age of cheese 72 days.

The cheese was very mottled, pieces of cheese from the white places contained 456000000 per g, from the yellow portions 51000000. Differentiation between gas producers and lactic acid bacteria was difficult.

8th analysis, 28th December. Age of cheese 84 days.

White parts, 67000000 per g, yellow parts 37000000 per g.

9th analysis, 4th January. 75000000 per g, differentiation impossible. The cheese was greyish white but yellow in places. Odour and taste very unpleasant.

The second cheese was made on the 12th October, 1 litre of a 24 hour old culture of 8ax, was added to 150 litres of milk. The curd was very gassy.

Date	Age in days	Total No. of bacteria	Gas-producers	°/₀	Liquefiers
Oct. 19	7	557 000 000	38 000 000	15,7	1 000 000
„ 28	16	926 000 000	43 000 000	4,7	1 000 000
Nov. 4	23	483 000 000	92 000 000	19,0	1 000 000
„ 12	31	569 000 000	122 000 000	21,4	1 000 000
„ 19	38	819 000 000	95 000 000	10,3	11 000
„ 26	45	290 000 000	5 000 000	1,7	—
		with streaks and	mottled appearance		
Dec. 4	53	252 000 000	720 000	2,8	—
„ 16	65	235 000 000	1 000 000	0,4	—
„ 28	77	97 000 000	Differentiation impossible		
Jan. 4	84	21 000 000	„	„	

The cheese had an unpleasant smell and taste, and the white spots had spread considerably. Liquefying bacteria were in the milk, they did not increase in the cheese and gradually ded out.

The cheese was judged better than that made on the 5th October, but received only 61 points out of 100, and only 15 out of 45 for flavour.

On November 2nd two cheeses were made; in the A cheese, on litre of a 24 hour old milk culture of 9m was used, in the B cheese one litre of the same culture and one litre of a culture of the B. acidi lactici was used.

Both curds were floating about three hours from setting. The flavour was gassy, the B curd was better than the A, although even B was very gassy.

Analysis of the B cheese in ordinary curing room.

Date	Age in days	Total No. of bacteria	Gas-producers	°/₀ of gas-producers
Nov. 4	2	395 000 000	200 000	0,45
„ 12	10	478 000 000	2 000 000	0,41
„ 19	17	175 000 000	1 000 000	0,57
Dec. 4	32	67 000 000	1 000 000	1,49
„ 16	44	98 000 000	300 000	0,81
„ 28	56	52 000 000	—	—
Jan. 4	63	7 000 000	460 000	6,5

Slightly mottled, flavour fair.

Cheese A was made from 225 pounds of milk, and at the time of putting to press the curd was divided into equal portions, one of which was placed in the ordinary curing room (55—60° F) and the other put into the refrigerator curing room, the average temperature of which was 40° F (4,4° C).

(See Table p. 477.)

Notes. 0,25 g. of cheese was used for all the above examinations. This quantity is too small as plugs from different parts of the same cheese will vary as much as 30 per cent in their bacterial content; even in the same plug, portions of equal weight show as high as 20 per cent of difference in the number of contained bacteria. The method of analysis was similar to that described by Russell, usually whey peptone

Cheese A in ordinary curing room. 55—60° F (12,78—15,50° C).

Date	Age in days	Total No. of bacteria	Gas producers	% of gas producers
Nov. 4	2	163 000 000	162 000 000	99,0
„ 12	10	346 000 000	338 000 000	97,6
„ 19	17	206 000 000	60 000 000	29,0
„ 26	24	112 000 000	12 000 000	10,7
Dec. 4	32	169 000 000	4 000 000	2,3
„ 16	44	138 000 000	4 000 000	2,8
„ 28	56	160 000 000	Differentiation	impossible
Jan. 4	63	112 000 000	691 000	0,61

Taste and odour bad, appearance, mottled.

Cheese A. Cold storage at 40° F (4,4° C).

Date	Age in days	Total No. of bacteria	Gas producers	% of gas producers
Nov. 4	12	164 000 000	162 000 000	98,7
„ 12	10	371 000 000	370 000 000	99,7
„ 19	17	167 000 000	150 000 000	89,8
„ 26	24	48 000 000	38 000 000	79,1
Dec. 4	32	328 000 000	311 000 000	94,8
„ 16	44	110 000 000	38 000 000	34,5
	56	247 000 000	Differentiation	difficult
„ 28			142 000 000	57,0
Jan. 4	63	158 000 000	35 000 000	22,1

Taste and odour very disagreeable, small mottles throughout the cheese.

gelatine was the medium used with or without the addition of sterile precipitated chalk. There was considerable difficulty in identifying the colonies of gas-producing germs from colonies of B. acidi lactici, the deep colonies of both being very similar, this difficulty increased as the cheese got older and this loss of cultural character may be compared with the loss of milk coagulation power of the lactic acid bacillus when isolated from old cheese. On all occasions only typical colonies of gas-producing germs were counted.

The character of all the cheese made with starters containing gas-producing germs was abnormal both in appearance, odor and taste; cheese B, made from milk to which was added a starter containing B. acidi lactici as well as the gassy starter, was considerably better in flavor, showing the improvement from the use of a beneficial culture in order to overcome an abnormal fermentation. The curd of this cheese was very gassy, but in the competition with the lactic acid bacteria the number of gas producers was considerably reduced, the cheese was slightly mottled, but the flavour was fair. This improvement may be entirely ascribed to the benficial effects of the lactic acid bacillus, as cheese made the same day and from the same milk, but without the addition of the lactic acid starter, was extremely abnormal; in appearance mottled, in taste and odor bad.

Butter experiments.

Three lots, each of one litre of pasteurized cream, which was again pasteurized for 20 minutes in an Arnold steriliser, was mixed with 50 ccm of a 24 hour old milk culture of gas producing bacilli 5, 9m and 13. Each lot of cream so inoculated was kept for 24 hours at

14° C then cooled and churned. 10 g of salt was used for each lot, and the butter placed in the refrigerator.

Butter with culture 5. Acidity 0,61 at time of churning, flavor bitter, disagreeable and slightly astringent. Score 32 per cent.

Butter with culture 9m. Acidity 0,81 at time of churning, resembled 5. Score 33 per cent.

Butter with culture 13. Acidity 0,54 at time of churning, flavor disagreeable, very bitter, slightly astringent. Score 30 per cent.

Summary.

The gas-producing bacteria in milk belonged to a large group of bacteria with the following peculiarities: Short to medium long rods, single or in pairs, chains seldom, ends rounded, often pronounced granular structure, stained unevenly, Gram's method negative, growing well on all ordinary media at room temperature, but better at 37° C, did not liquify gelatine, producing an acid reaction in milk and usually causing coagulation, facultative anaërobe, reducing nitrates, fermenting lactose and glucose and often saccharose.

Among the varieties studied, several were typical B. coli and B. lactis aërogenes and taking these extremes we had every imaginable modification in varieties which may be said to link the extremes together.

1h and 35 were typical coli, motile, surface colony on gelatine flat, markings like a grape leaf, thin to medium, thick on all other solid media, coagulation of milk, fermentation of lactose, glucose and saccharose, production of indol.

13, 15d, 16, 20, 21, 27b, 27d, 30a and 39 were typical lactis aërogenes, non-motile, gelatine colonies round, prominent, and shiny, growth on other solid media thick or very thick and shiny. Milk coagulated, fermentation of lactose and glucose eventually saccharose. No indol-production.

All other varieties fell between these two species, resembling in some particulars either of the two distinct species. Many attempts have been made by various investigators to arrange these varieties in sub groups, and whilst it is not always desirable to augment the number of such provisional classifications, yet for the purpose of classifying the varieties described in this paper, we have made an analysis of the different varieties and divided them into a number of groups.

Sub group 1. Growth on solid media, aërogenes typical, and indol producing were 2f, 3g, 8ax, 8ay, 9g, 9h, 9m, 11e, 12, 15a, 15by, 26, 30b, 30c, 33, 34.

9m grew thin on potato.

11e did not coagulate milk.

Sub group 2. Growth aërogenes typical, but motile. 18.

Sub group 3. Aërogenes typical, motile, and producing indol 15bx, 24a, 24b, 28, 30d, 32 and 40.

Sub group 4. Coli typical, non-motile, no gas production in saccharose, 37 and 38. 37 produced no indol and did not coagulate milk.

Sub group 5. Coli typical growth on gelatine, thick on potatoes and agar, non-motile, no indol, no coagulation of milk, 14 and 25.

Sub group 6. A typical growth on gelatine, thin on potatoes. Subdivision a. Non-motile, indol production 1g, 2ey, 3h, 19. 2ey did not produce gas in saccharose. 19 did not coagulate milk. Subdivi-

sion b. Motile, indol, 22a. Subdivision c. Non-motile, no indol, 17by, 22b, 36. Subdivision d. Motile, no indol, 10c.

Sub group 7. Atypical on gelatine, thick on potatoes. Subdivision a. Indol, motile, 4, 5, 6a, 6b, 8e, 23, 29a, 31a. 6a did not ferment saccharose. 5 and 8 did not ferment saccharose and did not coagulate milk. 29a did not coagulate milk. Subdivision b. Non-motile, indol, 15c, 17d, 22d, 31b, 31d. Subdivision c. No indol, non motile, 7, 17a, 17bx, 41. 17bx did not coagulate milk. Subdivision d. No indol, motile. 29d did not coagulate milk.

The neutral red test did not appear of any value as a means of separating members of the colon group.

Some of these gas-producing bacteria were unable to grow at a temperature of 4,4° C (40° F).

The agglutination test had only a limited value for the diagnosis of closely related varieties of B. coli and B. lactis aërogenes.

The gas production of certain varieties was largely increased by several passages through sterilized milk.

The number of gas producing organisms in milk delivered at the factory was often large. Over one million per ccm were frequently isolated. The percentage of gas-producing forms to the total bacterial content varied from a fraction of a per cent. to 34,3 %.

These organisms probably came from manure, flies, and in two instances from the udders of cows which were not suffering from mastitis.

The B. acidi lactici (Esten) restrained the growth of the gas producing bacteria.

Certain gas-producing bacteria produced an odor in milk which cheesemakers call "Gassy". Other organisms belonging to this group produced a decidedly "cowy" odor. The taste of milk containing these bacteria was very unpleasant.

Gas-producing bacteria produced tainted cheese and in colored cheese gave the appearance known to cheesemakers as "Mottled". The mottling of cheese was probably a result of the bleaching action of the gases generated by this class of bacteria.

"Gassy" cheese was not improved in flavor by cold storage at 4,4° C (40° F).

Pasteurized cream ripened with a culture of various gas-producing bacteria produced butter with a bitter, disagreeable flavor.

References.

Duclaux, Le lait. Paris 1887. p. 254.

Weigmann, Landw. Woch. f. Schleswig-Holstein. 1890. No. 37. p. 890. — Milchzeitung. 1890. p. 741.

de Freudenreich, Annales de micrographie. T. II. p. 353, and Landwirt. Jahrb. d. Schweiz. Bd. IV. 1890. p. 17.

Mac Fayden, Landwirt. Jahrb. d. Schweiz. Bd. IV. 1890. p. 64.

Adametz, Ueber die Ursachen und Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse. Das Blähen der Käse. Wien. 1893. p. 36.

Baumann, Beiträge zur Erforschung der Käsereifung. (Die landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XLII. 1893. Heft 3. p. 181—214.)

Boekhout, F. W. J. and Ott de Vries, J. J., Ueber die Blähung im Edamerkäse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 89.)

Barthel, Chr., Recherches sur les Microorganismes de l'air des etables, du lait au moment de la traite et de la mamelle. (La revue générale du lait. T. I. 1902. No. 22—23.)

Russell, H. L., Gas-producing bacteria and the relation of the same to cheese.

(Twelfth Annual Report of the Agricultural Experiment Station, Wisconsin. 1895. p. 139.)
Bolley, H. L. and Hall, C. M., Cheese curd inflation; its relation to the bacterial flora of fore milk. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. I. 1895. p. 788.)
Moore, V. A. and Ward, A. R., An inquiry concerning the source of gas and taint producing bacteria in cheese curd. (Cornell Univ. Experiment Station, Ithaca, N. Y. Bull. 158. 1899.)
Conn, H. W., Classification of dairy bacteria. (From Report of Storrs [Conn.] Agric. Exper. Station for 1899. p. 13.)
Marshall, C. E., Gassy curd and cheese. (Michigan State Agricultural College Experiment Station. Bulletin 183. 1900.)
Savage, Journal of Hygiene. Vol. I. p. 437.
Rothberger, C. J., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXV. p. 15—69.

Notiz über einen vegetabilischen Käse aus Kamerun.

Von Dr. **Walter Busse,**
Dozent an der Universität Berlin.

Durch die Freundlichkeit meines Kollegen, des Herrn Dr. H. Winkler hierselbst, erhielt ich im September vorigen Jahres ein käseartig schmeckendes Präparat, das unter dem Namen „Pembe" von den Bakwiri auf den Markt gebracht wird.

Der Käse wird aus den Samen von **Treculia africana** Decne., einem Urwaldbaume aus der Familie der Moraceen, hergestellt. Ueber die Zubereitungsweise konnte ich nur ermitteln, daß die Samen gekocht, geschält und zerquetscht werden, und daß aus dem so gewonnenen Brei Kuchen geformt werden, die man dann frisch auf den Markt bringt. Als einzige Zutat soll Capsicum-Pfeffer beigemengt werden.

Die Masse sieht schmutzigweiß aus, färbt sich aber nach eintägigem Stehen an der Luft äußerlich gelb, später unansehnlich bräunlich; der Geruch ist anfangs schwach quarkartig, bei längerem Stehen an der Luft ausgesprochen sauer. Pembe schmeckt in ganz frischem Zustande indifferent, doch macht sich alsbald die brennende Wirkung des Pfeffers auf der Zunge geltend; nach einigen Tagen tritt ein säuerlicher Geschmack deutlich hervor.

Bei mikroskopischer Untersuchung erwies sich die frische Masse als bestehend aus isolierten oder noch zu kleinen Gruppen vereinigten, mit Stärke vollgepfropften Parenchymzellen, zwischen denen Reste verzweigter Milchsaftschläuche und zahlreiche Oeltropfen sichtbar waren. Bakterien waren in mäßiger Zahl, Hefen oder andere Pilze nicht vorhanden.

Auch in den in feuchte Kammern gelegten 6 Proben fand innerhalb 6 Tagen keine Entwickelung von Pilzen irgendwelcher Art statt, während sich die Bakterien ungeheuer vermehrten; die Masse wurde breiig, ohne zu faulen, und war zuletzt völlig geruchlos. Der an geschütztem Orte trocken aufbewahrte Käse enthielt später ebenfalls nur Bakterien.

Eine eingehendere bakteriologische und chemische Untersuchung verbot sich für mich aus äußeren Gründen, doch wollte ich nicht unterlassen, auf das eigentümliche Präparat in Kürze aufmerksam zu machen. Offenbar haben wir es mit einer gemischten Milchsäuregärung zu tun, bei welcher sekundär u. a. auch Essigsäure gebildet wird. Die Milchsäureproduktion ist jedenfalls so stark, daß sie sowohl Buttersäuregärung als auch Fäulnis verhindert.

Victoria, 9. März 1905.

Ueber Plasmolyse und Turgorregulation der Presshefe.

Von **N. H. Swellengrebel**, Amsterdam.

Mit 9 Figuren.

(Schluß.)

Wie ersichtlich, bestehen mannigfache Abstufungen der Permeabilität den verschiedenen Stoffen gegenüber. Wenn man einer Substanz, die bei einer Konzentration isosmotisch mit 0,33 Mol. NaCl eine eben sichtbare Plasmolyse hervorruft, eine Intrameabilität = 0 gibt, so kann man für jeden Stoff eine Zahl angeben, die die relative Intrameabilität dieser Substanz angibt (vgl. Tab. VII).

Tabelle VII.

Stoff	Relative Intrameabilität für	
	Preßhefe	Steinberg
Natriumphosphat	12	
Glycerin	22	17
Natriumthiosulfat	22	22
Natriumnitrat		0
Glykokoll	43	0
Rohrzucker	45	60
Milchzucker	45	60
Asparagin	50	
Ammoniumoxalat	50	
Kaliumferrocyanid	65	
Malzzucker	67	60
Antipyrin	76	60
Aethylalkohol	94	94
Aethyläther	100	100

Zur Vergleichung meiner Ergebnisse mit jenen Overtons habe ich diese in folgenden Tabellen zusammengestellt. Die Overtonschen Daten sind dem Werke Hamburgers entnommen (10).

Overtonsche Ergebnisse:	Meine Ergebnisse:
Salze dringen nicht oder fast unmerklich ein.	Die meisten Alkalisalze dringen nicht ein, ausgenommen Natriumphosphat und -thiosulfat, die ein wenig intrameat sind und gelbe und rote Blutlaugesalze, die es stark sind.
Amidosäuren dringen kaum merklich ein.	Glykokoll dringt nur wenig ein, Asparagin stärker.
Zuckerarten und Mannit dringen nicht merklich ein.	Zuckerarten dringen ungleich stark ein (Enzymwirkung wegen nicht einwandsfrei), Mannit dringt nicht ein.
Glycerin dringt in ca. 2 Stunden ein.	Glycerin dringt in 96 Stunden ein.
Ammoniaksalze dringen nicht oder in unmerklichem Maße ein.	Ammoniaksalze dringen nicht ein, ausgenommen Ammoniumoxalat.
Antipyrin dringt sofort ein.	Antipyrin dringt stark ein.
Harnstoff dringt langsam ein.	Harnstoff dringt in 24 Stunden ein.
Einwertige Alkohole dringen äußerst leicht ein.	Aethylalkohol dringt sehr stark ein.
Aldehyde, Aceton, Aether und Esther dringen, soweit sie in Wasser löslich sind, schnell ein.	Aethyläther dringt sofort ein.

Es stimmen also meine Ergebnisse nicht immer mit jenen Overtons überein. Ein wichtiger Unterschied zeigt sich in dem un-

gleichen Verhalten dem Chloralhydrat und Vitalfarbstoff gegenüber: Chloralhydrat plasmolyiert die Preßhefe prompt, obwohl es lipoidlöslich ist; nur Safranin und Nilblau färben die Hefenzellen, Toluidinblau, Neutralrot und Thionine färben nur die abgestorbenen Zellen, außerdem sehen die mit Safranin und Nilblau tingierten Zellen so abnormal aus, daß man geneigt sein würde, an Abtötung derselben zu glauben[1]). Vielleicht enthalten die Hefezellen nicht jene Substanzen, in denen diese Stoffe sich leicht lösen. Dieses würde auch die Unfähigkeit der Hefen, durch Chloralhydrat narkotisiert zu werden, erklären. Was den Alkohol anbelangt, so gilt dafür der Overtonsche Satz, daß er um so schwieriger eindringt, je mehr Hydroxylgruppen er enthält: Aethylalkohol ist sehr intrameat, Glycerin schon weniger und Mannit gar nicht.

Die für die Zucker (Laktose ausgenommen) enthaltenen Werte sind nicht einwandsfrei: Saccharose wird durch das herausdiffundierende Invertin sogleich gespalten, Maltose viel langsamer, im Innern der Zelle durch Maltase. Traubenzucker wird von Zymase angegriffen. Nur die für Laktose erhaltenen Werte sind also als zuverlässig zu betrachten.

II. Turgorregulation bei Preßhefe.

Die Arbeiten Eschenhagens (6), Mayenburgs (17) und Pantanellis (26), die mit Schimmelpilzen arbeiteten, jene Stanges (31), van Rijsselberghes (30) bei grünen Pflanzenteilen und endlich jene Wortmanns (36) und Sokolawas (32) mit Wurzelhaaren zeigen, wie groß die Fähigkeit der Zelle ist, sich veränderten osmotischen Bedingungen anzupassen; die Untersuchungen Zopfs (45), Baurs (38) und Keutners (39) haben dargetan, daß auch den Bakterien diese Fähigkeit nicht mangelt.

Es ist natürlich schwer, zu entscheiden, worauf diese Turgorregulation zurückzuführen ist; man kann annehmen, daß bei der Anatonose (Turgorzunahme) aus osmotisch unwirksamen Stoffen osmotisch wirksame hervorgehen, wie z. B. die Stomataschließzellen ihren Turgor regulieren können durch Umsetzung von Stärke in Zucker und umgekehrt; es ist auch möglich, daß unter Einwirkung bestimmter Enzyme Spaltungen oder Polymerisationen stattfinden, wodurch der osmotische Druck des Zellsaftes ebenfalls herabgesetzt oder erhöht werden kann. Endlich kann man die Sache ganz anders auffassen und annehmen, daß nur die Permeabilität der Zelle bei der Ana- oder Katatonose Schwankungen unterworfen wird. Für die erste Auffassung sprechen die Befunde van Rijsselberghes, der beobachtete, daß bei der Katatonose einer Zelle von Tradescantia und Symphoricarpus eine Abnahme der Menge der freien Säure und eine Fällung von oxalsaurem Kalk stattfand.

Wie stark diese Turgorregulation sein kann, zeigen die Versuche, die Eschenhagen an Aspergillus angestellt hat. Die Substratkonzentration wurde in 1 Stunde von 1 auf 34 Proz. Traubenzucker erhöht, es stieg dann der Turgor von 8,5 auf 32 Proz. $NaNO_3$ in den jüngeren Zellen, 24 Stunden später war der Turgor bis 32 Proz. $NaNO_3$ angestiegen.

Eschenhagen beobachtete auch, daß, wenn die Substratkonzentration fortwährend ansteigt, die Differenz zwischen der plasmolytischen Grenzkonzentration und Substratkonzentration zuerst ansteigt, nachher

1) Herr Prof. M. W. Beijerinck teilte mir mit, es sei ihm in den meisten Fällen ebenfalls unmöglich gewesen, Hefezellen mit Vitalfarbstoffen zu tingieren.

aber wieder abfällt. Dieselbe Beobachtung machten auch Stange und Rijsselberghe.

Ich habe im folgenden einige Versuche beschrieben, die angestellt wurden, um zu erfahren, ob die Hefezellen sich auch im stande erwiesen, den Turgor der Umgebung anzupassen. Eine Fähigkeit, auf welche die Versuche Clerfeyts (48) und Lepoutres (49) schon hinwiesen und von welchen Bedingungen diese Regulation beherrscht wird. Es wurde vornehmlich die Anatonose zum Gegenstand der Untersuchung gemacht, aber auch einige Versuche über die Katatonose angestellt.

1. Anatonose.

Um zu ermitteln, ob bei Preßhefe (Delft) überhaupt Turgorregulation eintritt, wurde von einer Kultur auf Fischer-Substrat (plasmolytische Grenzkonzentration 0,275 Mol. NaCl) auf demselben Substrat + 0,5 Mol. NaCl gezüchtet, von diesem Substrat auf 1 Mol. NaCl u. s. w. Wenn man auf Konzentrationen züchtete, die stärker als 2 Mol. NaCl waren, so war ein Sprung von 0,5 Mol. zu groß, man konnte dann nur Sprünge von 0,25 Mol. machen. Um zu erfahren, ob die Turgorregulation von einer Permeabilitätsänderung dem Kochsalz gegenüber verursacht wurde, wurde die Ermittelung der plasmolytischen Grenzkonzentration nicht nur mit Kochsalzlösung, sondern auch mit Ammoniumchlorid und Kaliumnitrat angestellt. Stellte es sich heraus, daß diese Werte identisch waren, so war es sehr wahrscheinlich, daß hier keine Permeabilitätsänderung vorlag (vgl. Tab. VIII).

Tabelle VIII.

Konzentr. des Substrats in Mol. NaCl	Plasmolytische Grenzkonzentration in Mol. der betr. Stoff ermittelt mit			Differenz der plasmol. Grenzkonz. und Außenkonzentr.	Quotient: Außenkonz. plasm. Grenzkonzentration
	NaCl	NH_4Cl	KNO_3		
0,04	0,275	0,25	0,28	0,23	0,15
0,5	0,7–0,75	0,7–0,75	0,75	0,25	0,66
1,0	1,5	1,5	1,5	0,50	0,66
1,5	1,7–1,75	1,7–1,75	1,75	0,25	0,86
2,0	2,25		2,25	0,25	0,89
2,5	2,75		2,75	0,25	0,91

Bei 0,5 Mol. NaCl trat unvermindertes Wachstum ein, ebenso bei 1 Mol. NaCl, bei 1,5 Mol. dagegen bedeutende Wachstumsverringerung. Impfte man von 1,5 Mol. direkt auf 2 Mol., so war das Wachstum sehr verspätet; es war erst nach 40 Stunden merklich. Von dieser Kultur wurden 2 Kulturen auf 2,25 Mol. angelegt; nur eine gelangte nach 48 Stunden soweit zur Entwickelung, daß Ueberimpfung möglich war. Von dieser Kultur wurde auf 2,5 Mol. geimpft; nach 48 Stunden war die Entwickelung makroskopisch nicht sichtbar, mikroskopisch konnte man jedoch Sprossungen beobachten. Nachdem von dieser Kultur drei andere auf dem nämlichen Substrat angefertigt waren, war eine zur Fortsetzung des Versuchs verwendbar, es war aber so wenig Impfmaterial vorhanden, daß nur ein Kulturschälchen beimpft werden konnte. Nach 48 Stunden war weder makroskopisch noch mikroskopisch Entwickelung zu verspüren. Diese Konzentration ist also anscheinend der Maximalwert, welchen die Substratkonzentration erreichen kann, ohne daß die Entwickelung sistiert wird. Es ist aber zu bemerken, daß dieser Wert nur für Fischer-Substrat Gültigkeit hat; von vornherein ist es

wahrscheinlich, daß auf Traubenmostgelatine höhere Werte zu erreichen waren. Uebrigens stimmen diese Zahlen gut mit jenen Wehmers (37) überein (Hefe aus Heringslake Maximalwert 15 Proz. = 2,7 Mol. NaCl und mit jenen Kossowicz (46) (S. ellipsoïdeus I) Maximum 14 Proz. = ± 2 Mol. KCl, das sich bis 16 Proz. erhöhen ließ.

Des weiteren geht aus diesem Versuch hervor, daß, ebenso wie Eschenhagen u. a. dieses beobachteten, die Differenz zwischen plasmolytischer Grenzkonzentration und Außenkonzentration erst ansteigt, um nachher wieder zu fallen, dann einige Zeit konstant zu bleiben und zuletzt schnell herunterzugehen.

Indem, wie man später sehen wird, der Quotient der Grenz- und Außenkonzentration für verschiedene Substanzen ziemlich konstant ist, wenn die letztere zwischen 0,5—1 Mol. NaCl schwankt, nimmt dieser Quotient zu oder ab, wenn die Außenkonzentration resp. höher steigt oder niedriger sinkt.

Um zu erfahren, wie die Anatonose unter normalen Bedingungen verläuft, wurden Kulturen angefertigt auf Fischer-Substrat und, nachdem diese sich gut entwickelt hatten, wurde übergeimpft auf dasselbe Substrat mit 0,5 oder 1 Mol. NaCl, oder damit isosmotische Menge anderer Stoffe. Es wurde auch anorganische Nahrung (K_2HPO_4 0,1 Proz., $MgSO_4$ 0,02 Proz., $CaCl_2$ 0,01 Proz.) benutzt mit 1 Proz. Asparagin als N- und 1 Proz. Rohrzucker als C-Quelle (vgl. Tab. IX—XIV).

Tabelle IX. Fischer-Substrat + 0,6 Mol. NaCl.

Zeit	Plasmol. Grenzkonz.
0 Std.	0,23 Mol. NaCl
1 „ 30 Min.	0,75 „ „
2 „ 15 „	0,80 „ „
4 „	0,85 „ „
7 „	0,90 „ „
10 „	0,90 „ „
13 „	0,90 „ „
25 „	0,90 „ „

Tabelle X. Fischer-Substrat mit 5 Proz. Rohrzucker + 1 Mol. NaCl.

Zeit	Grenzkonzentration
0 Std.	0,3 Mol. NaCl
4 „	1,5 „ „
8 „	1,8 „ „
12 „	1,8 „ „
28 „	1,8 „ „

Tabelle XI. Anorg. Nahrung + 0,75 Mol. Ureum.

Zeit	Grenzkonzentration
0 Std.	0,3 Mol. NaCl
1 „	0,65 „ „
2 „	0,80 „ „
3 „	0,80 „ „
6 „	0,80 „ „
9 „	0,80 „ „

Tabelle XII. Anorg. Nahrung + 0,5 Mol. NaCl.

Zeit	Grenzkonzentration
0 Std.	0,3 Mol. NaCl
1 „	0,7 „ „
2 „	1,0 „ „
4 „	1,0 „ „
6 „	1,0 „ „
24 „	0,8 „ „

Tabelle XIII. Anorg. Nahrung + 0,5 Mol. C_2H_5OH.

Zeit	Grenzkonzentration
0 Std.	0,3 Mol. NaCl
1 „	0,5 „ „
2 „	0,5 „ „
5 „ 30 Min.	0,65 „ „
9 „	0,65 „ „
24 „	0,65 „ „

Tabelle XIV. Anorg. Nahrung + 60 Proz. Rohrzucker.

Zeit	Grenzkonzentration
0 Std.	0,3 Mol. NaCl
1 „	0,6 „ „
2 „	0,7 „ „
3 „	0,9 „ „
4 „	1,125 „ „
10 „	1,250 „ „
24 „	1,375 „ „
48 „	1,375 „ „

Aus diesen Tabellen geht hervor, daß im allgemeinen bei der Preßhefe keine Bergwerte bei der Anatonose beobachtet werden, ausgenommen in Tabelle XII; dieses ist aber auch der einzige Versuch, bei dem so etwas beobachtet wurde. Die Hefe verhält sich also in dieser Hinsicht anders, als Aspergillus niger, bei welchem Pantanelli ausgesprochene Bergwerte erhalten hat.

Intrameate Substanzen rufen, wie ersichtlich, ebensogut eine Turgorerhöhung hervor, wie nicht intrameate; die Regulation ist bei Alkohol selbst energischer als bei Kochsalz.

Aus Tabelle XIV geht hervor, daß die Hefe in einer Konzentration von 60 Proz. Rohrzucker sehr gut ihren Turgor regulieren kann. Dies steht nicht im Einklang mit der Angabe Buchners, die Hefe könne in 60 Proz. Rohrzucker nicht mehr fortkommen; sie tut es selbst sehr energisch, nachdem der Turgor reguliert ist. Wie dieses schon von Laurent (42) nachgewiesen wurde.

Aus der folgenden Tabelle (XV) ist ersichtlich, daß der Quotient von Außenkonzentration und plasmolytischer Grenzkonzentration ziemlich konstant bleibt, wenn die erste sich auf 0,3—1 Mol. NaCl beläuft.

Tabelle XV.

Außenkonzentration	Plasmolytische Grenzkonzentration	Quotient: Grenzkonzentration / Außenkonzentration
0,5 Mol. NaCl	0,75 Mol. NaCl	1,5
0,6 „ „	0,90 „ „	1,5
0,5 „ „	0,80 „ „	1,6
0,4 „ „	0,60 „ „	1,5
0,75 „ Ureum =		
0,5 „ NaCl	0,80 „ „	1,6
0,5 „ Aethylalkohol =		
0,33 „ NaCl	0,65 „ „	1,9

Dies ist also ganz im Einklang mit dem Befunde Pantanellis, dessen Versuche ergaben, daß dieser Quotient bei Aspergillus niger zwischen 3,06—3,93 Mol. KNO_3 schwankt.

Des weiteren wurden Versuche angestellt, um zu sehen, welchen Einfluß einige physikalische und Ernährungsbedingungen auf den Verlauf der Anatonose ausüben.

Einfluß der Kohlenstoffquelle. — Die Kohlenstoffquelle, die, wie schon erwähnt, auch auf die Größe des Turgors Einfluß ausübt, tut dieses ebenfalls auf den Verlauf des Turgors. Nur wenn Zucker als Kohlenstoffquelle geboten wird, tritt normale Anatonose ein; ohnedies tritt nur eben genügende oder, bei etwas stärkerer Konzentration, überhaupt keine genügende Anatonose mehr ein. Es wurden Kulturen auf Substraten angelegt, die neben den nötigen Salzen als Stickstoffquelle 1 Proz. Asparagin enthielten. Als Kohlenstoffquelle wurde Rohrzucker, Asparagin und Mannit geprüft. Die Ergebnisse zeigen Tabellen XVI und XVII (siehe p. 486).

Aus diesen Tabellen ist ersichtlich, daß der Maximalwert des Turgors (im allgemeinen zugleich auch der Endwert) viel später erreicht wird, wenn Mannit oder Asparagin als Kohlenstoffquelle geboten wird.

Einfluß der Stickstoffquelle. — Es wurde auch ein Versuch angestellt, um zu erfahren, ob verschiedene Stickstoffquellen die Anatonose

Tabelle XVI. Plasmolytische Grenzkonzentration auf Fischer-Substrat + 1 Mol. NaCl und als C-Quelle.

Zeit		Asparagin 5 Proz.	Rohrzucker 5 Proz.
30. XI.	11 Uhr a. m.	0,3 Mol. NaCl	0,3 Mol. NaCl
	2 „ p. m.	0,6 „ „	
	3 „ p. m.		1,5 „ „
	5 „ p. m.	0,75 „ „	
	7 „ p. m.	0,75 „ „	1,8 „ „
	10 „ p. m.	0,75 „ „	1,8 „ „
1. XII.	2 „ p. m.	0,75 „ „	1,8 „ „
	7 „ p. m.	0,75 „ „	1,8 „ „

Tabelle XVII. Plasmolytische Grenzkonzentration. Anorg. Nahrung + 0,5 Mol. NaCl als C-Quelle.

Zeit	Rohrzucker 1 Proz.	Asparagin 1 Proz.	Mannit 1 Proz.
0 Std.	0,3 Mol. NaCl	0,3 Mol. NaCl	0,3 Mol. NaCl
1 „	0,7 „ „	0,5 „ „	0,4 „ „
2 „	1,0 „ „	0,55 „ „	0,4 „ „
3 „			0,5 „ „
4 „	1,0 „ „	0,6 „ „	
5 „ 15 Min.			0,5 „ „
6 „	1,0 „ „	0,6 „ „	
10 „			0,5 „ „
24 „	0,8 „ „	0,6 „ „	0,5 „ „

beeinflussen. Es wurde Asparagin und Ammoniumtartrat geprüft; die Ergebnisse zeigt folgende Tabelle (XVIII):

Tabelle XVIII. Kultur auf anorg. Nahrung + 1 Proz. Rohrzucker als C-Quelle + 0,4 Mol. NaCl. Plasmolytische Grenzkonzentration mit N-Quellen.

Zeit	1 Proz. Asparagin	1 Proz. Ammoniumtartrat
0 Std.	0,3 Mol. NaCl	0,3 Mol. NaCl
1 „	0,6 „ „	0,6 „ „
2 „	0,6 „ „	0,6 „ „
6 „	0,6 „ „	0,65 „ „

Obwohl Ammoniumtartrat als Stickstoffquelle viel weniger als Asparagin leistet, hat dieses offenbar keinen Einfluß auf die Schnelligkeit der Turgorregulation.

Einfluß von Sauerstoffmangel. — Zur Entscheidung der Frage, ob Sauerstoffmangel auf die Turgorregulation Einfluß ausübt, wurden 2 Parallelkulturen angelegt auf Bierwürzegelatine; in einer Kultur wurde anaërob gezüchtet (nach Buchners Methode), in der anderen aërob. Das Ergebnis zeigt Tabelle XIX:

Tabelle XIX. Kultur auf Bierwürzegelatine + 0,5 Mol. NaCl. Plasmolytische Grenzkonzentration.

Zeit	Aërob	Anaërob
0 Std.	0,3 Mol. NaCl	0,3 Mol. NaCl
4 „	0,7 „ „	0,7 „ „

Es geht aus dieser Tabelle hervor, daß die starke Herabsetzung der Sauerstoffspannung keinen merkbaren Einfluß auf den Verlauf der Turgor-

regulation ausübt. Die Hefe verhält sich also diesem Einflusse gegenüber anders als Aspergillus niger. Pantanelli gibt ja an, daß Sauerstoffentziehung die Zunahme des Turgors dieses Schimmelpilzes vollständig verhindert.

Einfluß der Temperatur. — Pantanelli beobachtete, daß die Turgorregulation schneller bei höherer als bei niedrigerer Temperatur vor sich geht; Rijsselberghe (30) gibt an, daß osmotische Zellvorgänge bei 0° 8mal langsamer verlaufen als bei 30°. Ich konnte keinen Unterschied in der Schnelligkeit der Turgorregulation bei den Hefen beobachten, vielleicht war die Differenz der Temperaturen, bei welchen gearbeitet wurde, nicht genügend groß (s. Tab. XX):

Tabelle XX. Kultur auf Bierwürzegelatine + 0,5 Mol. NaCl.

Zeit	Plasmolytische Grenzkonzentration bei	
	19°	9°
0 Std.	0,3 Mol. NaCl.	0,3 Mol. NaCl
1 „	0,6 „ „	0,6 „ „
2 „	0,7 „ „	0,7 „ „
4 „	0,8 „ „	0,8 „ „
7 „	0,8 „ „	0,8 „ „

Einfluß von Anaestheticis. — Bei der Untersuchung der Permeabilität der Preßhefe verschiedenen Stoffen gegenüber wurde schon darauf hingewiesen, daß Chloralhydrat, obwohl es ein Anaestheticum ist, doch in einer Konzentration isosmotisch mit 0,2 Mol. NaCl plasmolysiert, also nicht intrameat ist. Aus der Theorie Overtons über die Narkose muß man jetzt schließen, daß es in den Hefezellen keine Lipoïde gebe, in welchen Chloralhydrat löslich ist, und daß dieser Stoff folglich auch nicht anästhesierend auf die Hefezellen einwirke.

Die eventuell anästhesierende Wirkung konnte man am besten studieren an dem Einflusse, welchen das Chloralhydrat auf die Anatonose ausübt. Pantanelli hat ja gezeigt, daß die Anaestheticis die Anatonose von Aspergillus hemmen; es war also zu erwarten, daß dieses auch bei den Hefen der Fall sein würde (s. Tab. XXI):

Tabelle XXI. Kultur auf Bierwürzegelatine + 0,5 Mol. NaCl.

Zeit	Plasmolytische Grenzkonzentration	
	ohne Zusatz	mit 0,5 Proz. Chloralhydrat
0 Std.	0,3 Mol. NaCl	0,3 Mol. NaCl
1 „	0,5 „ „	0,5 „ „
3 „ 30 Min.	0,6 „ „	0,6 „ „
6 „ 30 „	0,75 „ „	0,75 „ „

Chloralhydrat hemmt also in keiner Weise die Anatonose. Zur Kontrolle wurde auch noch der Einfluß studiert, welchen 1 Proz. Aether, dem Substrat zugesetzt, auf den Verlauf der Anatonose ausübt. Es stellte sich heraus, daß der Aetherzusatz die Anatonose vollständig hemmt (s. Tab. XXII):

Tabelle XXII. Kultur auf Bierwürzegelatine + 0,5 Mol. NaCl

Zeit	Plasmolytische Grenzkonzentration mit	
	1 Proz. Aether	keinem Zusatz
0 Std.	0,4 Mol. NaCl	0,4 Mol. NaCl
2 „	0,4 „ „	0,8 „ „

Wenn man die Impermeabilität der Hefezellen dem Cloralhydrat gegenüber in Betracht zieht, ist es nach der Overtonschen Theorie leicht begreiflich, warum das Cloralhydrat die Hefezellen nicht anästhesiert. Sie enthalten Lipoide im Sinne Overtons, in welchen Aether und einwertige Alkohole leicht, Chloralhydrat und Vitalfarbstoffe nicht löslich sind.

2. Katatonose.

Aus den Versuchen Eschenhagens (6) und Rijsselberghes (30) war schon bekannt, daß Zellen sich schnell an niedrigere Konzentrationen des Substrates anpassen, wenn der Sprung nicht so groß ist, daß die Zellen platzen. Auch Pantanelli hat eingehende Versuche über die Katatonose bei Aspergillus niger angestellt. Er beobachtete, daß, ebenso wie bei der Anatonose, der Endwert nicht gleich erreicht wird, sondern daß es Berg- und Talwerte gibt und daß erst nach einigen Schwankungen sich eine konstante Turgorgröße einstellt. Dieses hat auch Eschenhagen beobachten können. Nach den Versuchen Pantanellis wird die Katatonose von äußeren Umständen viel weniger beeinflußt als die Anatonose. Nahrung und Sauerstoffmangel üben keinen Einfluß aus; Anaesthetica verringern nur die Nachwirkungen. Nur die Größe des Sprungs, die Temperatur und das Alter der Zellen beeinflussen den Verlauf der Zellen.

Es wurden über diesen Gegenstand einige Versuche mit Preßhefe Delft angestellt. Es ergab sich daraus, daß im allgemeinen der Turgor erst schnell, dann immer weniger energisch fällt. Immer hört bei einem Turgorwert von 0,4–0,5 Mol. NaCl das Abfallen kürzere oder längere Zeit auf, um am Ende, wenn der Sprung groß genug gewesen war, wieder zu sinken und ohne Schwankungen den Endwert zu erreichen. War der Sprung nicht zu klein, so wurde der Endwert in 2–24 Stunden erreicht (s. Tab. XXIII–XXVI):

Tabelle XXIII. Von anorg. Nahrung 1 Proz. Asparagin und 1 Proz. Rohrzucker + 0,75 Mol. Ureum auf Fischer-Substrat gezüchtet.

Zeit	Plasmol. Grenzkonz.
0 Min.	0,80 Mol. NaCl
10 „	0,70 „ „
20 „	0,60 „ „
40 „	0,50 „ „
1 Std.	0,50 „ „
9 „	0,50 „ „

Tabelle XXIV. Von anorg. Nahrung 1 Proz. Asparagin und 1 Proz. Rohrzucker + 0,5 Mol. Aethylalkohol auf Fischer-Substrat gezüchtet.

Zeit	Plasmol. Grenzkonz.
0 Min.	0,65 Mol. NaCl
5 „	0,60 „ „
15 „	0,50 „ „
30 „	0,50 „ „
1 Std.	0,50 „ „
3 „ 15 „	0,50 „ „
9 „	0,45 „ „

Tabelle XXV. Von anorg. Nahrung 1 Proz. Asparagin, 10 Proz. Rohrzucker + 1 Mol. NaCl auf Fischer-Substrat gezüchtet.

Zeit	Plasmol. Grenzkonz.
0 Min.	1,8 Mol. NaCl
10 „	1,5 „ „
20 „	1,0 „ „
40 „	0,7 „ „
50 „	0,5 „ „
1 Std. 10 „	0,4 „ „
1 „ 20 „	0,4 „ „
1 „ 50 „	0,3 „ „
24 „	0,3 „ „

Tabelle XXVI. Von anorg. Nahrung 1 Proz. Asparagin und 60 Proz. Rohrzucker auf Fischer-Substrat gezüchtet.

Zeit	Plasmol. Grenzkonz.
0 Min.	1,375 Mol. NaCl
20 „	0,60 „ „
35 „	0,50 „ „
55 „	0,45 „ „
1 Std. 25 „	0,40 „ „
2 „	0,40 „ „
5 „ 30 „	0,40 „ „
24 „	0,30 „ „

3. Die Rolle des Glykogens bei der Turgorregulation.

Bekanntlich ist das Glykogen nicht konstant in den Hefezellen enthalten. Meißner (18) hat gezeigt, daß es während der Hauptgärung nicht da ist und erst am Ende der Gärung wieder auftritt; er erklärt dieses dadurch, daß die Zellen während der Hauptgärung außerordentlich lebensfähig sind und in diesem Zustande für Jod, womit das Glykogen nachgewiesen wurde, impermeabel sind. Zu diesem Nachweis benutzte er eine Jodjodkaliumlösung, die 4 Proz. Jod enthielt. Will (35), der auch Untersuchungen über das Glykogen in den Hefen anstellte, benutzte eine viel schwächere Lösung (1,67 Proz. Jod). Braun (4) meinte, es sei zum einwandfreien Nachweis des Glykogens notwendig, daß nicht zu konzentrierte Jodlösungen Verwendung finden; die Lösung Meißners sei in dieser Hinsicht zu verwerfen.

Es war von Interesse, zu erfahren, ob vielleicht die Hefen ihren Turgor erhöhen können durch die Umsetzung des Glykogens etwa in Traubenzucker oder in eine andere Substanz. Wäre dieses in der Tat der Fall, so müßte man beobachten können, 1) daß während der Anatonose das Glykogen verschwindet, 2) daß dieses Glykogenarmwerden nicht auf Mortalitätserscheinungen beruht.

Zum Nachweis des Glykogens wurde eine Jodjodkaliumlösung benutzt, die 0,25 Proz. Jod enthielt, also genügend verdünnt, so daß man nach den Braunschen Untersuchungen zuverlässigen Glykogennachweis erwarten konnte. Wurden die Zellen dieser Lösung ganz oder teilweise rotbraun gefärbt, so wurden sie als glykogenreich bezeichnet. Trat keine Braunfärbung ein, oder war diese so schwach, daß man sie nur schwer von dem Gelb des Protoplasmas unterscheiden konnte, so wurden diese Zellen zu den glykogenarmen gerechnet.

Zuerst wurde untersucht, inwieweit das Verschwinden des Glykogens und das Ueberbringen in ein Substrat von höherem osmotischen Wert parallel geht. Impfte man von einer glykogenreichen Kultur auf eine Lösung von 3 Proz. Maltose + 2,3 Mol. Glycerin, so enthielt die erste Kultur nach 15 Stunden viel Glykogen, während in der zweiten nur wenige glykogenreiche Zellen vorhanden waren. Bei einem zweiten und dritten Versuche wurde dasselbe Ergebnis erhalten.

Da dies nur vorläufige Versuche darstellten, die nichts über das Schicksal des Glykogens während der Turgorregulation sagen, wurde jetzt ein Versuch angestellt, wobei nicht nur auf das Verhalten des Glykogens, sondern auch auf die Plasmolyse in einer Substanz von höherer Konzentration und auf die Gärung geachtet wurde (vgl. Tab. XXVII):

Tabelle XXVII. Kultur auf anorg. Nahrung: Asparagin 2 Proz., Rohrzucker 5 Proz.

Zeit	Kultur mit Zusatz von Mol. NaCl (A)			Kultur ohne NaCl (B)	
	Gärung	Glykogen	Plasmolyse	Gärung	Glykogen
0 Std.		reichlich	Plasmolyse		reichlich
1 „	keine	weniger	„	gärt	weniger
2 „	„	„	Deplasmolyse	„	„
2 „ 30 Min.	„	fast ganz fort	gänzlich deplasmolysiert	„	beinahe ganz fort
5 „	Anfang Gärung	keines	„	„	keines
7 „	gärt	„	„	„	„
26 „ 30 „	„	reichlich	„	„	reichlich

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß beide Parallelkulturen zur selben Zeit ihres Glykogens verlustig gehen. Das ist aber bei der Kultur B darauf zurückzuführen, daß Gärung eintrat; diese kann aber nicht die Ursache des Verschwindens bei Kultur A sein, da hier erst Gärung aufzutreten anfing, als alles Glykogen schon verschwunden war. Man würde also anzunehmen geneigt sein, daß es irgend welche Beziehung gebe zwischen der Anatonose und dem Verschwinden des Glykogens.

Zuletzt wurde noch ein Versuch angestellt, um zu erfahren, ob glykogenreiche Zellen ihren Turgor schneller steigern, wenn sie auf konzentriertes Substrat übergeimpft werden als glykogenarme. Wenn das Glykogen wirklich dazu benutzt wird, um durch Umsetzung in eine nicht intrameate, osmotisch wirksame Substanz den Turgor zu regulieren, so kann man erwarten, daß glykogenreiche Zellen vor glykogenarmen in dieser Hinsicht bevorzugt werden. Dieses ist aber nicht der Fall, wie folgender Versuch zeigt. Es wurden zwei Kulturen, die eine auf 10-proz. Rohrzuckerlösung, die andere auf Bierwürzegelatine angefertigt. Nach 14 Stunden zeigten sich die Zellen der ersten Kultur sehr glykogenreich, die der zweiten erwiesen sich aber als glykogenarm. Der Turgor der Zellen beider Kulturen war derselbe, nämlich 0,4 Mol. NaCl. Es wurde von diesen Kulturen auf Bierwürzegelatine + 0,5 Mol. NaCl übergeimpft und außerdem von der glykogenreichen Kultur auf Bierwürzegelatine ohne NaCl-Zusatz. Nach 2 Stunden war bei den beiden ersteren Parallelkulturen der Turgor bis auf denselben Wert (0,8 Mol. NaCl) gestiegen, die glykogenreichen Zellen waren ihres Glykogens verlustig geworden, wogegen die Zellen der dritten Kultur (ohne NaCl) ihr Glykogen behalten hatten. Der erste Teil dieses Versuches zeigt also, daß die glykogenreichen Zellen den glykogenarmen in dieser Hinsicht nicht überlegen sind; der zweite Teil bestätigt die Ergebnisse der vorigen Versuche.

Man kann aber gegen den letzten Teil des vorigen Versuches einwenden, der Verlust des Glykogens sei kein Anzeichen von Turgorregulation, sondern nur eine Mortalitätserscheinung. Um dieses zu entscheiden, wurde versucht, den Quotienten von glykogenreichen und glykogenarmen Zellen einerseits und zwischen lebenden und toten Zellen andererseits ausfindig zu machen. Hierzu wurde aus einer Kultur, die glykogenreiche Zellen enthielt, ausgesät auf Bierwürzegelatine + 0,5 Mol. NaCl. Nach 2 Stunden, als der größte Teil des Glykogens verschwunden war, wurde direkt der Quotient der glykogenreichen und -armen Zellen bestimmt. Dann wurde eine Aufschwemmung von Hefezellen in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung (den Hefen gegenüber „physiologisch“, also von 0,25 Mol. NaCl) hergestellt, der Gehalt an Zellen in einer Platinöse dieser Aufschwemmung bestimmt und eine Platinöse in Bierwürzegelatine geimpft. Da ein Verband von Hefezellen nur eine Kolonie geben würde, wurde vorher auch noch der Quotient von der Anzahl der Zellen und Zellverbände bestimmt und die Anzahl der Kolonieen, die man mit dem Plattenverfahren erhielt, mit dieser Zahl multipliziert. Man erhielt auf diese Weise den Quotienten von lebenden und toten Zellen. Eine einfachere Methode, um diesen Quotienten zu bestimmen, die doch, wie der Vergleich mit den anderen Versuchen ergab, ganz zuverlässige Zahlen erbrachte, besteht darin, daß man die Hefe in Eosin eintaucht. Dann färbt sich das lebende Protoplasma nicht, nur die toten Zellen werden tingiert. Es ist zu empfehlen, nach der Eosineinwirkung erst mit 0,25 Mol. NaCl nachzuspülen, um eventuell stattgefundene Vital-

färbung zu beseitigen. Man kann also mit Hilfe des Eosins wieder auf direkte Weise den Quotienten von lebenden und toten Zellen bestimmen.

Mit diesen Methode wurde eine Reihe Versuche angestellt. Es wurden nicht nur gleich nach der Turgorregulation, sondern auch später die Quotienten bestimmt (s. Tab. XXVIII).

Tabelle XXVIII. Kultur glykogenreicher Zellen auf Bierwürzegelatine + 0,5 Mol. NaCl.

Zeitverlauf nach der Impfung	Glykogenreiche Zellen / Glykogenarme Zellen	Tote Zellen / Lebende Zellen
5 Std.	0,067	0,068
2 „	0,26	0,07
4 „	0,09	0,07
5 „	0,09	0,09
6 „	0,07	0,09
8 „ 30 Min.	0,07	0,09
10 „ 30 „	0,07	0,18

Anm.: Versuche 2—7 beziehen sich auf eine und dieselbe Kultur.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß in den ersten Stunden nach dem Konstantwerden der Turgorwert die Quotienten der glykogenarmen und -reichen Zellen und lebendigen und toten Zellen einander ungefähr gleichkommen. In den ersten Stunden nach der Ueberimpfung auf das konzentriertere Substrat war der erste Quotient dem letzteren überlegen, da viele Zellen ihren Turgor noch nicht reguliert hatten und demzufolge ihres Glykogens noch nicht verlustig waren. Später hatten nur jene Zellen ihr Glykogen behalten, die nicht in der Lage waren, ihren Turgor zu regulieren und folglich zu Grunde gingen; es ist klar, daß in dieser Periode die zwei Quotienten einander gleichkommen müssen. Zuletzt fingen auch jene Zellen abzusterben an, die vorher ihren Turgor reguliert hatten, da aber die Zahl der glykogenreichen Zellen konstant blieb, ist es einleuchtend, daß der zweite Quotient dem ersten überlegen wurde.

Es ergibt sich aus diesem Versuche, daß das Abnehmen des Glykogens nach Uebertragung der Zellen auf ein Substrat von höherem osmotischen Wert nicht eine Anzeige des Absterbens der Zellen, sondern einer Anpassung an neue Bedingungen ist.

Die Frage, ob die Hefe durch Umsetzung des Glykogens in einen osmotisch wirksamen Stoff ihren Turgor regulieren kann, erscheint mir durch diese Versuche nicht gelöst; die Tatsache, daß während der Anatonose glykogenreiche Zellen ihr Glykogen verlieren und daß Zellen, die das Glykogen behalten, offenbar absterben, spricht für diese Annahme; nicht im Einklange damit ist aber die Tatsache, daß glykogenarme Zellen ihren Turgor ebenso schnell regulieren, wie glykogenreiche Zellen.

Zum Schluß sei es mir erlaubt, den Herren Professoren H. de Vries, Ed. Verschaffelt und H. P. Wijsman für ihre wertvollen Ratschläge meinen besten Dank abzustatten.

Literatur.

1) d'Arsonval, La pression osmotique et son rôle de défense contre le froid, dans la cellule vivante. (Comptes rendues. T. CXXXIII. 1902. p. 84.)
2) Barendrecht, Die Agglutination von Hefen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. 1901.)
3) Beijerinck, Zur Ernährungsphysiologie des Kahmpilzes. (Ebenda. Abt. I. Bd. XI. 1892.)

4) Braun, Nachweis des Glykogens in den Hefezellen. (Zeitschr. für das gesamte Brauwesen. p. 397.)
5) Copeland, Ueber den Einfluß von Licht und Temperatur auf den Turgor. Inaug.-Diss. Halle 1896.
6) Eschenhagen, Ueber den Einfluß von Lösungskonzentrationen auf den Turgor etc. von Schimmelpilzen. Inaug.-Diss. Leipzig 1880.
7) Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903.
8) —, Die Plasmolyse der Bakterien. (Sitzungsb. der kgl. Sächs. Ges. d. Wiss. Math. Kl. 1891.)
9) —, Die Empfindlichkeit der Bakterien und das bakterizide Serum. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXV. 1900.)
10) Hamburger, Osmotische Druck- und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften. Wiesbaden 1902.
11) Hinze, Wissenschaftl. Meeresunters. Kiel. Neue Folge. Bd. IV. 1902.
12) —, Berichte der deutschen Bot. Ges. Bd. XXI. 1903. Heft 6.
13) Hoeber, Die physiologische Chemie der Zellen und der Gewebe. Leipzig 1902.
14) Kaufler, Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. XLIII. 1903.
15) Loomis, Wiedemanns Annalen. Bd. LVII.
16) Löwit, Ueber Niederschlagsbildung bei Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Abt. I. Bd. XXXIV. 1903.)
17) Mayenburg, Jahrbücher f. wissensch. Botanik. Bd. XXXIV. 1901.
18) Meissner, Ueber das Auftreten und Verschwinden des Glykogens in den Hefezellen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI.)
19) Migula, Arbeiten aus dem bakteriolog. Inst. der techn. Hochschule in Karlsruhe. Bd. I. 1894.
20) Nernst und Abegg, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XV. 1894.
21) Overton, Ueber die anatomischen Eigenschaften der lebenden Pflanzenzelle und Tierzelle. (Vierteljahresschrift der Naturforscherges. Zürich. 1895.)
22) —, Ueber die anatomischen Eigenschaften der Zellen in ihrer Bedeutung für die Toxikologie. (Ebenda. 1896.)
23) —, Ueber die osmotischen Eigenschaften der Zelle. (Zeitschrift für physikal. Chemie. 1897.)
24 —, Ueber die allgemeinen anatomischen Eigenschaften der Zelle und ihre vermutliche Ursache und ihre Bedeutung für die Physiologie. (Vierteljahrsschr. der Naturf. Ver. Zürich. 1899.)
25) —, Studien über Narkose. 1901.
26) Pantanelli, Zur Kenntnis der Turgorregulation bei Schimmelpilzen. (Jahrb. für wissensch. Botanik. Bd. XL. 1904. Heft 3.)
27) Pfeffer, Abhandl. der Sächs. Gesellsch. der Wissensch. Bd. XX. 1893.
28) Prior, Ueber die Umstände, welche die Vergärung des Bieres bei der Haupt- und Nebengärung bedingen. (Bayerisches Brauereijournal. 1894.)
29) Reinhardt, Festschr. f. Schwenderer. 1899.
30) Rijsselberghe, van, Mémoires de l'Académie de Belgique. T. LVIII. 1899.
—, Bulletin de l'Académie de Belgique. 1901.
31) Stange, Botan. Ztg. Bd. L. 1892.
32) Sokolawa, Bulletin de la Société des Naturalistes de Moscou. Bd. IX. 1897.
33) Vries, H. de, Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft. (Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. XIV. 1884.)
34) —, Plasmolytische Studien über die Wand der Vakuolen. (Ebenda. Bd. XVI. 1885.)
35) Will, Allgemeine Brauerei- und Hopfenztg. 1892.
36) Wortmann, Botanische Ztg. Bd. L. 1893.
37) Wehmer, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897.
38) Baur, Wiss. Meeresunt. Kiel. N. F. Bd. VI. 1901.
39) Keutner, Ebenda. Bd. VIII. 1904.
40) Petterson, Arch. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1900.
41) Lewandowsky, Ebenda. Bd. XLIX. 1904.
42) Laurent, Ann. Pasteur. Bd. II. 1888.
43) Massart, Arch. de Biol. Bd. IX. 1899.
44) Ficker, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. 1899.
45) Zopf, Beitr. z. Morph. etc. der nied. Org. Leipzig 1892.
46) Kossowicz, Zeitschr. f. d. landw. Versuchsw. Oesterr. Bd. VI. 1903.
47) Prior, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. II.
48) Clerfeyt, Bull. del'Ac. R. Belge. Cl. d. sc. 1901.
49) Lepoutre, Ebenda. 1902.

Beiträge zur Erkenntnis des Einflusses verschiedenartiger Kohlenhydrate und organischer Säuren auf die Metamorphose des Nitrates durch Bakterien.

[Aus der chemisch-physiologischen Versuchsstation der k. k. böhmischen technischen Hochschule in Prag.]

Von **Julius Stoklasa** und **E. Vítek.**

(Ein Nachtrag als vorläufige Mitteilung.)

Seit dem Erscheinen unserer Publikation in No. 3/4 und 6/7 l. J. ist es uns tatsächlich gelungen, aus einer größeren Bakterienkultur von Bac. Hartlebi die Enzyme zu isolieren, welche eine Milchsäure- und alkoholische Gärung in Glukose, Lävulose, dann in Saccharose und Maltose hervorzurufen vermochten.

Diese Milchsäure- und alkoholische Gärung bleibt bei Sauerstoffzutritt nicht stille stehen und der Prozeß verläuft, wie wir in unserem hypothetischen Schema gezeigt haben, unter Bildung von Essig- und Ameisensäure.

Die Gase, welche im Verlaufe dieses Prozesses entstehen, setzen sich aus Kohlendioxyd und Wasserstoff zusammen (bei Abwesenheit von Natriumnitrat), während bei Anwesenheit von $NaNO_3$ der Wasserstoff teilweise zu Wasser oxydiert wird. Die entstandenen Gase enthalten auch elementaren Stickstoff neben Kohlendioxyd und Wasserstoff.

Durch diese unsere Studienergebnisse, über welche wir hier bloß diese vorläufige Mitteilung machen, erscheint die von uns aufgestellte Hypothese wesentlich unterstützt.

Dabei ist noch der interessante Umstand zu vermerken, daß wir in der Bakterienzelle Enzyme abgeschieden haben, die jenen in der Tier- und Pflanzenzelle vorkommenden ähnlich sind.

Diese unsere Feststellung mag gewissermaßen als Ergänzung unserer früheren Studien über glykolytische Enzyme in der Tier- und Pflanzenzelle gelten.

Bei dieser Gelegenheit seien einige, wenn auch von dem sachkundigen Leser selbst schon korrigierte, sinnstörende Druckfehler, die sich in die oben erwähnten Arbeiten eingeschlichen, richtig gestellt. Es sind dies folgende: Auf Seite 104 (Heft No. 3/4) soll es im Beginn des zweiten Absatzes heißen: Es fanden sich daher in der Lösung von den kohlenstoffhaltigen Nährmedien immer nur eine von den angeführten organischen Säuren der Kohlenhydrate vor (statt: es fand sich daher in der Lösung außer u. s. w.), welche Fehler wohl schon aus der Note 1 auf derselben Seite als solche erkannt worden sein dürften.

Auf Seite 183 des Heftes 6/7 soll es im vierten Absatze, 2. Zeile statt: aus „und" (gewisse organische Säuren) und in der 9. Zeile statt: „Affirmität" selbstverständlich „Affinität" heißen, und schließlich auf Seite 187 erster Absatz statt organische Nährstoffe anorganische lauten.

Die physiologischen Wirkungen des Ozons.

Von Prof. Dr. **Wilhelm Sigmund,** Prag.

(Fortsetzung.)

Milchsäuregärung.

Ueber die Einwirkung des Ozons auf die Milchsäuregärung liegen von zwei Forschern Beobachtungen vor, die jedoch in ihren Schlußfolgerungen zu entgegengesetzten Resultaten führten. Angeregt wurden die diesbezüglichen Versuche durch die bekannte Tatsache, daß Milch bei einem Gewitter schneller sauer wird.

Liebig[1]) beobachtete, daß Ozon die Säuerung der Milch verlangsamt; das Ozon wurde durch Ueberschlagen von elektrischen Funken zwischen 0,8—0,9 cm entfernten Elektroden erzeugt; die Menge des wirksamen Ozons ist nicht angegeben. Nach Liebig ist nicht das Ozon, sondern die bei Gewittern herrschende hohe Temperatur die Ursache des raschen Gerinnens der Milch.

Tolomei[2]) dagegen gelangt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schlusse, daß das Ozon, welches er mit Hilfe einer Elektrisiermaschine erzeugte, das Sauerwerden der Milch beschleunigt, und erklärt das schnelle Gerinnen der Milch bei Gewitter durch die Gegenwart von Ozon in der Luft.

Von den beiden hier in Betracht kommenden Faktoren, hohe Temperatur und Ozon, ist das erstere als ein die Milchgerinnung beschleunigendes Moment altbekannt; es handelt sich also zunächst um das Ozon, insbesondere um die Frage: Hat das Ozon einen Einfluß auf die Gerinnung der Milch und in welchem Sinne? Zur Beantwortung dieser Frage wurden folgende Versuche ausgeführt:

Je 150 ccm Magermilch wurden in Schalen unter zwei Glocken von je 6 Liter Inhalt gebracht; die eine Glocke wurde mit ozonisierter Luft gefüllt, indem durch dieselbe Luft mit einer Geschwindigkeit von 10 l pro Stunde und 0,3 mg O_3 pro Liter $^3/_4$ oder 1 Stunde lang geleitet wurde, durch die Kontrollglocke wurde ebenso lang und mit derselben Geschwindigkeit gewöhnliche Luft geleitet. Nach 14—20-stündigem Verweilen der beiden Milchproben unter den Glocken wurde der Säuerungsgrad nach v. Soxhlet und Henkel, bezw. die Gerinnungszeit durch halbstündliches Erhitzen von je 10 ccm Milch in Reagenzgläsern bestimmt.

Die wiederholt ausgeführten Versuche ergaben entweder gar keinen Unterschied im Säuerungsgrad und in der Gerinnungszeit oder nur eine geringe Differenz, z. B. von 0,1—0,3 Säuregraden, wobei die kleineren Zahlen bei der in der ozonisierten Luft befindlichen Milch vorkamen. Auf Grund dieser Versuche kann man annehmen, daß das Ozon in der angewandten Menge von 0,3 mg O_3 pro Liter Luft die Geschwindigkeit der Gerinnung entweder gar nicht zu beeinflussen vermag, oder wenn

1) Liebig, J., Ueber die Ursachen des raschen Gerinnens der Milch bei Gewitter und die Mittel, dasselbe zu verhindern. [Dissert.] Heidelberg 1890. (Ref. in Kochs Jahresber. über d. Fortschr. in d. Lehre v. d. Gärungsorganismen. Jahrg. I. 1890. p. 84.)

2) Tolomei, G., Das Gerinnen der Milch bei Gewitterluft. (Milchzeitung. Bd. XX. p. 186; Kochs Jahresbericht. Jahrg. II. 1891. p. 186). Derselbe, Ueber die Wirkung des Ozons auf einige Mikroorganismen. (Atti della Accad. dei Lincei. 1893. Vol. II. p. 354. Ref. in Kochs Jahresbericht. Jahrg. V. 1894. p. 98; Chem. Centralbl. 1894. Bd. I. p. 395).

schon in minimaler Weise, so im negativen Sinne. Die letztere Annahme wird auch durch folgenden Versuch bestätigt.

Je 100 ccm Magermilch wurde in zwei 500 ccm-Kolben gebracht, in den einen wurde unmittelbar über die Milch, ohne mit ihr zu schütteln, 0,5 l ozonisierter Sauerstoff mit 2 mg O_3 pro Liter und in den zweiten Kolben unter denselben Bedingungen reiner Sauerstoff geleitet. Die beiden Milchproben wurden bei 17,5° C 16 Stunden stehen gelassen und dann die Gerinnungszeit in der oben angegebenen Weise bestimmt. Das Resultat der Untersuchung war, daß die im Ozonkolben befindliche Milch um 1 Stunde später gerann, als die im Sauerstoffkolben enthaltene.

Es wurde dann endlich das Ozon in die Milch hineingeleitet, teils um weitere Anhaltspunkte über die Beeinflussung der Milchgerinnung durch Ozon zu gewinnen, teils um zu untersuchen, ob das Ozon sich nicht eventuell zur Konservierung der Milch eignen würde[1]). Zu diesem Behufe wurde in je 100 ccm Magermilch ½—1 Stunde lang ozonisierter Sauerstoff geleitet, während ein anderer Teil unbehandelt blieb. Die Milchproben wurden mehrere Stunden bei 17,5° C stehen gelassen und dann der Säuerungsgrad und die Gerinnungszeit wie oben bestimmt. Es ergaben sich keine größeren Unterschiede zwischen unbehandelter und ozonisierter Milch, so betrug z. B. bei einstündiger Ozonisation mit 4 mg O_3 der Säuregrad 3,6 und bei der unbehandelten Milch 4,3. In der Gerinnungszeit wurde eine Verzögerung von 1—3 Stunden bei der ozonisierten Milch beobachtet.

Auch diese Versuche zeigen, daß das Ozon den Gerinnungsprozeß der Milch verlangsamt, allerdings nicht in dem Maße, um das Ozon als Konservierungsmittel für Milch verwenden zu können, auch dann nicht, wenn es gelingen würde, die Milch durch größere Ozonmengen haltbarer zu machen, weil durch eine stärkere Ozonisation die Milch in ihrer Zusammensetzung wesentlich beeinflußt wird. Nach den Versuchen von Gorup-Besanez[2]) wird in erster Linie das Kasein der Milch vom Ozon angegriffen und zerstört, ebenso, aber langsamer, die Fette, nur der Milchzucker widerstand den Einwirkungen des Ozons.

Was das eingangs erwähnte rasche Gerinnen der Milch bei Gewitter anbelangt, so halte ich es für ausgeschlossen, daß es durch das Ozon verursacht wird; dagegen wirkt die bei Gewittern herrschende hohe Temperatur zweifellos beschleunigend auf das Sauerwerden der Milch ein, ob sie aber die einzige Ursache dieser Erscheinung ist, sei vorläufig dahingestellt. Es wäre nämlich nicht unmöglich, daß die bei einem Gewitter sich bildende salpetrige Säure bezw. die Oxyde des Stickstoffs mit eine Ursache der raschen Milchgerinnung sein könnten; darüber sollen weitere Versuche entscheiden.

III. Einwirkung des Ozons auf niedere Pflanzen, insbesondere Bakterien.

Bald nach der Entdeckung des Ozons wurden Versuche über die desinfizierende und desodorisierende Wirkung desselben ausgeführt.

---

1) Wie ich nachträglich erfahre, hat Umbeck (Chem.-techn. Jahrb. Jahrg. III.) die Milch durch Ozon dadurch haltbarer gemacht, daß er sie beim Ozonisieren auf eine dem Gefrierpunkte nahe Temperatur abkühlen ließ; hierbei hat aber jedenfalls nicht das Ozon, sondern vielmehr die niedrige Temperatur die erhöhte Haltbarkeit der Milch bewirkt.

2) v Gorup-Besanez, Ueber die Einwirkung des Ozons auf organische Verbindungen. (Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. CX. 1859. p. 86.)

Houzeau beobachtete, daß schmutzige Wäsche in ozonisierter Luft ihren Geruch verliert; Scoutetten machte faulende organische Stoffe durch Ozon geruchlos; Wood und Richardson machten eine ähnliche Beobachtung bei faulendem Blut; nach Boillot verhindert ozonhaltige Luft die Fäulnis tierischer Stoffe[1]).

Auch über den Einfluß des Ozongehaltes der Luft auf den Verlauf gewisser Epidemieen, insbesondere der Cholera, wurden Untersuchungen ausgeführt. So glaubte Moffat, auf Grund seiner Beobachtungen während der Choleraepidemie von 1854 und 1866 in England nachzuweisen, daß das Auftreten der Cholera mit einem Herabsinken und Verschwinden des Ozons zusammenfällt; ähnliche Beobachtungen machten Cook in Bombay 1863—1868, Smalton in Canada, T. Böckel in Straßburg 1854 u. a. Demgegenüber stehen aber mindestens ebenso viele Beobachtungen, bei welchen kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Cholera und dem Ozongehalt der Luft wahrgenommen wurde[2]). Es ist daher keineswegs erwiesen, daß das Auftreten der Epidemie mit einem Verschwinden des Ozons in der Luft zusammenfällt; es ist vielmehr mit Fox anzunehmen, daß die Verminderung des Ozongehaltes der Luft eine Folge des Auftretens der Epidemie ist, da bei einer solchen die Menge der ozonischen Substanzen sowohl der lebenden als auch der toten in der Luft größer wird.

Spezielle Versuche über die Einwirkung des Ozons auf Mikroorganismen hat zuerst Fox[3]) ausgeführt; er beobachtete, daß Schimmelpilzsporen, Bakterien, Vibrionen als auch kleine Monaden durch Ozon zerstört werden. Gorup-Besanez[4]) fand, daß Hefe von Ozon energisch angegriffen wird. Nach Geissler und Stein[5]) können sich in ozonhaltigem Wasser keine niederen Organismen entwickeln. Grossmann und Meyerhausen[6]) fanden, daß Mikroorganismen aus vegetabilischen und animalischen Infusen unter dem Einflusse des Ozons ihre Eigenbewegungen nach wenigen Minuten verloren; Bakterien wurden durch hinreichende Ozonmengen vernichtet.

Szpilmann[7]) untersuchte die Einwirkung des Ozons auf Milzbrandbacillen, konnte aber weder eine vernichtende noch eine hemmende Wirkung wahrnehmen. Chappuis[8]) sammelte Luftstaub auf Baumwollpfröpfchen und setzte einige derselben der Einwirkung ozonisierter Luft aus, in Berührung mit flüssiger Bierhefe gebracht, verursachten die ozonisierten Pfröpfchen selbst nach 20 Tagen keine Trübung der klaren

---

1) Vergl. Fox, C. B., Ozone and autozone, their history and nature. London 1873; Engler, C., Historisch-kritische Studien über das Ozon. (Separatabdruck aus Leopoldina. Heft 15. Halle 1879.)

2) Vergl. Engler, C., Historisch-kritische Studien über das Ozon. p. 59 des Separatabdrucks.

3) Fox, Ozone and autozone. p. 151 u. 163; Engler, C., Historisch-kritische Studien über das Ozon. p. 61. Separatabdruck.

4) v. Gorup-Besanez, E., Ueber die Einwirkung des Ozons auf organische Verbindungen. (Annal. d. Chem. u. Pharm. Bd. CX. 1859. p. 107.)

5) Geissler und Stein, Sitzungsber. d. niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilkunde. Bonn 1875; Bot. Jahresber. Bd. V. p. 88.

6) Grossmann und Meyerhausen, Ueber das Leben der Bakterien in Gasen. (Pflügers Archiv. Bd. XV. 1877. p. 264.)

7) Szpilmann, Ueber das Verhalten der Milzbrandbacillen in Gasen. (Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. XIV. p. 365.)

8) Chappuis, E., Action de l'ozone sur les germes contenus dans l'air. (Bulletin de la soc. chimique. 1881. 35, 290; Ref. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. XIV. Jg. 1881. p. 1014; Chem. Centralbl. 1881. p. 373.)

Flüssigkeit, während die nicht ozonisierten bereits nach wenigen Tagen eine Trübung durch Entwickelung gewisser Organismen hervorriefen; Ozon tötet also die Luftkeime, welche sich in der Bierhefe entwickeln können. Fischer[1]) gelangt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schlusse, daß das Ozon die Entstehung und Fortpflanzung organischer Keime nur verzögert, sie aber keineswegs vernichtet. Oerum[2]) konnte keine schädigende Wirknng des Ozons auf Bakterien wahrnehmen. Nach Lukaschewitz[3]) ist die sterilisierende Wirkung des Ozons auf Bac. subtilis, Kommabacillen, Bac. anthracis und die Mikroorganismen des faulenden Eiweißes so gering, daß sie kaum in Betracht kommt; dagegen wirkt das Ozon stark desodorisierend.

Oberdörffer[4]) fand im Gegensatz zu Szpilmann, daß Milzbrandsporen durch 5-stündiges Einwirken eines Ozonstromes getötet werden. Wyssokowitsch[5]) konstatierte eine wachstumshemmende Wirkung auf Bakterien, ihre Pathogenität blieb jedoch unverändert. Sonntag[6]), der im Gegensatz zu den bisherigen Arbeiten die einwirkende Ozonmenge auch quantitativ bestimmte, findet das Ozon ungeeignet zur Desinfektion. Labbé und Oudin[7]) untersuchten die Einwirkung des Ozons auf Tuberkelbacillen; die mit den ozonisierten Kulturen geimpften Versuchstiere blieben am Leben, während die Kontrolltiere, mit den unbehandelten Kulturen geimpft, zu Grunde gingen.

Diese auf Grund der bisherigen Arbeiten so ganz verschiedene Beurteilung des Ozons als Desinfektionsmittel fand ihre Erklärung durch die grundlegenden Arbeiten von Ohlmüller[8]). Er wies nach, daß das Ozon energisch auf Bakterien einwirkt, wenn dieselben in Wasser aufgeschwemmt sind und wenn das Wasser nicht zu stark mit lebloser organischer Substanz verunreinigt ist, indem das Ozon zuerst die tote organische Substanz oxydiert und dann erst zerstörend auf die Bakterien einwirkt; der Erfolg ist der gleiche, wenn die Menge der leblosen organischen Masse bis zu einem gewissen Grade durch das Ozon oxydiert wird. Es gelang ihm auf diese Weise Milzbrandsporen, Milzbrandbacillen, Cholera- und Typhusbacillen zu vernichten. Ebenso wies er nach, worauf auch schon Sonntag (l. c.) hinwies, daß trockenes Ozon auf angetrocknete Bakterien nicht einwirkt; nur wenn die ozonisierte Luft oder die Versuchsobjekte einen gewissen Feuchtigkeitsgrad aufweisen, tritt eine schädigende Wirkung ein. Daher eignet sich auch das Ozon nicht zum Desinfizieren von Wohnräumen und Gebrauchsgegenständen (Kleider, Wäsche etc.), abgesehen davon, daß größere Ozon-

1) Fischer, E., Ueber die Einwirkung des Ozons auf Gärung und Fäulnis. [Inaug.-Dissert.] Bonn 1883.

2) Oerum, Desinfectionsforsög med Ozon. (Ugeskrift for Läger. 1887. No. 11—12. [Dänisch]. Ref. Centralbl. f. Bakteriologie. 1887. p. 202.)

3) Lukaschewitz, A., Ueber die desinfizierende Wirkung des Ozons. [Inaug.-Dissert.] Petersburg 1888; Ref. Malys Jahresber. f. Tierchemie. Bd. XVIII. 1888. p. 338.)

4) Oberdörffer, Ueber die Einwirkung des Ozons auf Bakterien. [Inaug.-Dissert.] Bonn 1889.

5) Wyssokowitsch, Die Einwirkung des Ozons auf das Wachstum der Bakterien. (Mitteilungen aus Dr. Brehmers Heilanstalt für Lungenkranke. Görbersdorf 1890; Ref. Kochs Jahresber. Jahrg. I. 1890. p. 45.)

6) Sonntag, Ueber die Bedeutung des Ozons als Desinficiens. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. VIII. 1890. p. 95.)

7) Labbé, D. und Oudin, Compt. rend. T. CXIII. 1891. p. 141.

8) Ohlmüller, Ueber die Einwirkung des Ozons auf Bakterien. (Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVIII. 1893. p. 229.)

mengen die zu desinfizierenden Gegenstände selbst mehr oder weniger energisch angreifen würden.

Ransome und Foulerton[1]) bestätigten die Resultate Ohlmüllers.

Auch Christmas[2]) konnte die desinfizierende Wirkung des Ozons feststellen, doch hörte dieselbe auf, sobald der Ozongehalt der Luft unter 0,05 Vol.-Proz. sank.

Die Untersuchungen Ohlmüllers ermöglichten es, das Ozon zur Sterilisation von Trink- und Nutzwasser praktisch zu verwerten[3]).

Die im großen ausgeführten Versuche bestätigten die bakterizide Kraft des Ozons, und wenn es auch bis jetzt noch nicht gelungen ist, ein hygienisch vollkommen einwandfreies Wasser herzustellen, so bedeutet das Ozonverfahren doch einen entschiedenen Fortschritt und übertrifft in bakteriologischer Hinsicht alle bisher im Großbetrieb angewandten Methoden, insbesondere die Sandfiltration.

Die Konzentration des zur Wassersterilisation benutzten Ozons betrug meist 3—5 mg O_3 pro Liter Luft; im allgemeinen hat sich eine Konzentration von 3—4 mg O_3 pro Liter Luft als hinreichend erwiesen.

In chemischer Beziehung ergaben sich folgende Veränderungen des Wassers durch die Ozonisierung: Die Menge der gelösten organischen Substanz wird durchschnittlich um 45 Proz. vermindert; der Eisengehalt herabgesetzt, die salpetrige Säure zu Salpetersäure oxydiert, während der Ammoniakgehalt keine wesentliche Aenderung erfährt, ebenso wird der Gehalt an Chloriden kaum beeinflußt. Der Gehalt der gesamten

1) Ransome, A. und Foulerton, R., Ueber den Einfluß des Ozons auf die Lebenskraft einiger pathogener und anderer Bakterien. (Proceed. R. Soc. London. 68, 55; Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXIX. p. 900; Kochs Jahresber. Jahrg. XII. 1901. p. 86.)

2) de Christmas, J., Sur la valeur antiseptique de l'ozone. (Annales de l'Inst. Pasteur. VII. 1893. p. 776; Kochs Jahresber. Jahrg. IV. 1893. p. 110.)

3) Literatur: Oppermann, G., Ein neues elektrolytisches Verfahren zur Reinigung und Sterilisierung des Trink- und Gebrauchswassers. (Hygien. Rundschau. 1894. p. 865; Kochs Jahresber. Jahrg. V. 1894. p. 22.) — van Ermengem, E., De la stérilisation des eaux par l'ozone. (Annal. de l'Institut Pasteur: 1895. N. 9. p. 673; Ref. Chem. Centralbl. 1895. Bd. II. p. 999.) — Calmette, A., Rapport sur la stérilisation industrielle des eaux potables par l'ozone. (Annal. de l'Institut Pasteur. T. XIII. 1899. p. 344; Ref. Kochs Jahresber. Jahrg. X. 1899. p. 72.) — Weyl, Th., Keimfreies Trinkwasser mittelst Ozon. (Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde. Abt. I. Bd. XXVI. p. 15; Chem. Centralbl. 1898. Bd. II. p. 397.) — Krull, F., Die Wassersterilisation durch ozonisierte Luft nach dem System von Abraham und Marmier. (Zeitschr. f. angewandte Chemie. Bd. XIV. p. 57; Chem. Centralbl. 1901. Bd. I. p. 408. — Erlwein, G., Trinkwasserreinigung durch Ozon nach dem System Siemens und Halske. (Journal f. Gasbeleuchtung u. Wasserversorgung. 1901. p. 552. — Chem. Centralbl. 1901. Bd. II. p. 652.) — Ohlmüller und Prall, Die Behandlung des Trinkwassers mit Ozon. (Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. XVIII. 1902. p. 417; Chem. Centralbl. 1902. Bd. I. p. 1123.) — van t'Hoff, H. J., Die Reinigung des Trinkwassers durch Ozon. (Zeitschr. f. Elektrochemie. Jahrg. VIII. 1902. p. 504.) — Schüder und Proskauer, Ueber die Abtötung pathogener Bakterien im Wasser mittelst Ozon nach dem System Siemens und Halske. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLI. p. 227; Chem. Centralbl. 1903. Bd. I. p. 52.) — Dieselben, Weitere Versuche mit dem Ozon als Wassersterilisierungsmittel im Wiesbadener Ozonwasserwerke. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLII. p. 293; Chem. Centralbl. 1903. Bd. I. p. 425.) — Weyl, Th., Ueber die Anwendung des Ozons zur Reinigung von Trinkwasser. (Ber. d. Deutsch. pharm. Ges. Bd. XII. p. 382; Chem. Centralbl. 1903. Bd. I. p. 425.) — Pflanz, W., Die Verwendung des Ozons zur Verbesserung des Oberflächenwassers und zu sonstigen hygienischen Zwecken. (Vierteljahrsschr. f. ger. Medizin u. öff. Sanitätswesen. Bd. XXVI. Suppl.-Heft 1903. p. 141; Chem. Centralbl. 1903. Bd. II. p. 1198.)

freien und halbgebundenen Kohlensäure wird um 4,7 Vol.-Proz. herabgesetzt, dagegen der Sauerstoffgehalt erhöht; ein fremdartiger Geruch und Geschmack tritt nicht auf. Gelblich bis braun gefärbtes Flußwasser war nach der Ozonisation vollkommen farblos, auch huminsubstanzhaltiges, mooriges Wasser wurde entfärbt. Zur Enteisenung empfiehlt sich das Ozonverfahren nur dann, wenn sich das Eisen durch bloße Lüftung nicht entfernen läßt, also wenn es z. B. an Huminsäure gebunden ist.

Nachdem sich die bisherigen Arbeiten über die Einwirkung des Ozons auf Bakterien hauptsächlich auf pathogene Bakterien konzentrierten, habe ich die Ozonwirkung auf einige in der Bodenbakteriologie eine Rolle spielenden Bakterien, insbesondere auf Bacillus Mycoides und Knöllchenbakterien (Erbsen), Rhizobium Radicicola, dann auf den landwirtschaftlich wichtigen Pilz Phoma Betae, und endlich auf Penicillium glaucum untersucht. Diese Organismen wurden in Reinkulturen zu Versuchszwecken benutzt, die ich in der k. bayr. agrikulturbotanischen Anstalt teils selbst gezüchtet habe, teils mir vom Direktor der Anstalt, Herrn Regierungsrat Dr. Hiltner, freundlichst zur Verfügung gestellt wurden.

Endlich habe ich noch die Einwirkung des Ozons auf die Bakterien der Milch untersucht. Wenn auch die Sterilisation der Milch durch Ozon mit Rücksicht auf die bei Wassersterilisation gemachten Erfahrungen a priori aussichtslos erschien wegen der großen Menge lebloser organischer Substanz in der Milch, die einen großen Teil des Ozons konsumiert und der Einwirkung auf die Bakterien entzieht, so habe ich die Versuche dennoch ausgeführt, um zu ermitteln, ob und in welchem Umfange die Zahl der in der Milch enthaltenen Bakterien abnimmt.

Versuche mit Bacillus Mycoides, Rhizobium Radicicola, Phoma Betae und Penicillium glaucum.

Als Nährböden wurden für Mycoides alkalische Fleischpeptongelatine oder Agar, für die Knöllchenbakterien schwach saure Gelatine, für Phoma und Penicillium schwach saure Erbsengelatine benutzt.

Die Einwirkung des Ozons auf die genannten Organismen wurde auf zweierlei Weise untersucht.

Nach der einen Versuchsanordnung wurden die Versuchsobjekte auf die angeführten Nährböden in je zwei Petri-Schalen geimpft und diese unter zwei Glocken von je 10 l Inhalt gebracht. Die Glocken waren zweifach tubuliert, der eine Tubus befand sich oben in der Mitte, der andere seitlich unten; durch letzteren wurde die gewöhnliche und ozonisierte Luft eingeleitet und durch den oberen Tubus mittels Tropfaspiratoren abgesaugt. Die Glocken ruhten mit ihren geschliffenen Rändern auf ebenfalls geschliffenen Glasplatten.

Um die geimpften Petri-Schalen unter die Glocken zu bringen, wurden die letzteren seitlich etwas gehoben, die Schalen hineingeschoben und die Deckel rasch weggezogen. Die zur Ozonisierung bestimmte Glocke wurde vor dem Einbringen der Schalen mit ozonisierter Luft gefüllt. Die zugeleitete Luft wurde bei einigen Versuchsreihen durch eine Schicht von Baumwolle filtriert, bei anderen nicht, um auch die Einwirkung des Ozons auf die in der Luft enthaltenen Mikroorganismen bezw. ihrer Keime beobachten zu können. Nach Ablauf der Einwirkungsdauer des Ozons wurden die Petri-Schalen mit den vorher sterilisierten Deckeln bedeckt und im Keimschrank bei 20° C stehen gelassen.

Versuche.

Dauer der Ozonwirkung 4 Tage; durch die eine Glocke wurde täglich durch 20 Stunden ozonisierte Luft geleitet mit einer Geschwindigkeit von 5 l pro Stunde und einem Ozongehalt von 0,6 mg O_3 pro Liter, durch die Kontrollglocke unter denselben Bedingungen gewöhnliche Luft; die Luft wurde vor der Zuleitung nicht filtriert.

Beobachtungen:

Bacillus Mycoides:

	Luft	Ozon
am 4. Tage:	Eine Mycoides-Kolonie von 40 mm Durchmesser	keine
am 6. Tage:	Eine Mycoides-Kolonie von 52 mm Durchmesser, außerdem zahlreiche Schimmelpilzkolonieen,	keine

auch am 13. Tage zeigte die Ozonplatte keine Kolonieen.

Phoma Betae:

	Luft	Ozon
am 4. Tage:	Eine Phoma-Kolonie von 35 mm Durchmesser und 12 fremde Kolonieen	Eine Phoma-Kolonie von 16 mm Durchmesser und keine anderen Kolonieen
am 6. Tage:	Eine Phoma-Kolonie von 35 mm Durchmesser und zahlreiche fremde Kolonieen	Eine Phoma-Kolonie von 16 mm Durchmesser und keine anderen Kolonieen

am 13. Tage erreichte die ozonisierte Phoma-Kolonie einen Durchmesser von 60 mm

Penicillium glaucum:

	Luft	Ozon
am 4. Tage:	Eine Penicillium-Kolonie von 8 mm Durchmesser und noch 7 kleinere Schimmelpilzkolonieen	Eine Penicillium-Kolonie von 4 mm Durchmesser
am 6. Tage:	Mit zahlreichen Kolonieen besät	Zwei Penicillium-Kolonieen von 9 und 4 mm Durchmesser
am 13. Tage:	51 Kolonieen	11 Kolonieen

Bei einer anderen Versuchsreihe wurde durch 4 Tage durch die eine Glocke täglich 3 Stunden lang ozonisierte Luft mit einer Geschwindigkeit von 3 l pro Stunde und mit 0,9 mg O_3 pro Liter und durch die Kontrollglocke ebenso gewöhnliche Luft geleitet; in beiden Fällen wurde die Luft vorher durch eine Schicht von Baumwolle filtriert.

Beobachtungen: Mycoides ergab ein ähnliches Resultat, wie beim vorigen Versuch: die unter der Ozonglocke gewesene Schale zeigte selbst nach 14 Tagen keine Mycoides-Kolonie, während sich in der Kontrollschale die Mycoides-Kolonie über die ganze Schale verbreitet hat. Knöllchenbakterien: Während sie sich in der nicht ozonisierten Petri-Schale zu einer üppigen Kolonie entwickelten, die später allerdings durch das Auftreten von Pilzkolonieen, insbesondere von Penicillium, beeinträchtigt wurde, hat sich die Kolonie der Knöllchenbakterien in der ozonisierten Schale nur in Form eines dünnen, schleimigen Ueberzuges entwickelt, die vom 6. Tage an in der Entwickelung stationär blieb, trotzdem keine fremden Kolonieen sich angesiedelt hatten.

Diese eben beschriebene Methode hatte den Nachteil, daß auch der Nährboden dem Ozon Angriffspunkte bot und so ein Teil des Ozons der

Einwirkung auf die Organismen entzogen wurde, ferner daß der Nährboden durch das Ozon in seiner Zusammensetzung mehr oder weniger verändert wurde und diese Aenderung eventuell auch einen Einfluß auf die Weiterentwickelung der Organismen haben konnte.

Ich hatte daher noch eine andere Versuchsanordnung zur Ausführung gebracht, bei welcher die genannten Fehlerquellen vermieden wurden, indem ich die Organismen erst nach erfolgter Ozonisation auf die Nährböden überimpfte. Die Details der Versuche waren: Eine Platinöse von der Reinkultur wurde in 10 ccm sterilisiertem Leitungswasser verteilt, ein Büschelchen sterilisierter Glaswolle mit Hilfe einer sterilisierten Pinzette hineingetaucht und noch feucht in eine sterilisierte Glasröhre (durch Abbrennen mit Alkohol) gegeben und durch diese Röhre ozonisierter Sauerstoff geleitet; nach erfolgter Ozonisation wurde die Glaswolle wieder mit 10 ccm sterilisiertem Wasser geschüttelt und hiervon auf die Nährböden geimpft.

Durch einstündiges Ozonisieren von Mycoides und Knöllchenbakterien, wobei 1,2 mg O_3 zur Einwirkung gelangte, wurde keines der genannten Bakterien getötet, es fand nur eine Verzögerung in deren Entwickelung statt; so betrug am 3. Versuchstage der Durchmesser der ozonisierten Mycoides-Kolonie fast genau die Hälfte der Kontrollkolonie, die Entwickelung der Ozon-Mycoides blieb nicht stationär, sondern schritt normal weiter und erreichte am 5. Tage die Größe der Kontrollkolonie vom 3. Tage.

Einwirkung des Ozons auf die Bakterien der Milch.

Versuche.

Um die Menge der leblosen organischen Masse möglichst herabzusetzen und damit dem Ozon weniger Angriffspunkte zu bieten, wurde zu den Versuchen Magermilch verwendet.

Je 100 ccm Magermilch wurden in 150 ccm-Kölbchen gebracht, in das eine wurde ozonisierter Sauerstoff geleitet, Ozonisationsdauer eine Stunde, einwirkende Ozonmenge 4 mg O_3. Je 1 ccm der unbehandelten und ozonisierten Milch wurden zu 100 ccm sterilisiertem Wasser gegeben. davon wieder 1 ccm zu 100 ccm sterilisiertem Wasser und hiervon 1 ccm zum Gießen der Platten verwendet; als Nährboden diente schwach alkalisches Fleischpeptonagar.

Die Versuchsergebnisse waren:

Zahl der Bakterien in 1 ccm

unbehandelter Milch	816 585
ozonisierter Milch	721 140

Versuch: Versuchsanordnung wie vorhin, nur die Ozonisierung war eine stärkere. Ozonisationsdauer 2 Stunden, Geschwindigkeit des Sauerstoffstromes 1,5 l pro Stunde, Ozongehalt 2,4 mg O_3 pro Liter, einwirkende Ozonmenge zusammen 7,2 mg O_3.

Versuchsergebnisse:

Zahl der Bakterien in 1 ccm

unbehandelter Milch	869 610
ozonisierter Milch	361 175

Es findet demnach, insbesondere bei Anwendung einer größeren Ozonmenge, wohl eine Verminderung der Zahl der in der Milch enthaltenen Bakterien statt, doch ist das damit erzielte Resultat noch weit davon entfernt, eine wirklich keimfreie Milch zu liefern; bei Vollmilch,

in welcher die Menge der toten organischen Substanz noch größer ist, würden die Sterilisationsversuche mit Ozon zu noch ungünstigeren Ergebnissen führen. Das Ozon eignet sich daher weder zum Konservieren noch zum Sterilisieren der Milch, auch dann nicht, wenn es durch Anwendung noch größerer Ozonmengen gelingen würde, die Milch vollkommen keimfrei zu machen, denn wie schon bei den Versuchen über die Konservierung der Milch ausgeführt wurde, wäre eine solche Milch in ihrer Zusammensetzung wesentlich verändert.

IV. Einwirkung des Ozons auf höhere Pflanzen.

1. Einwirkung des Ozons auf die Keimung.

Ueber die Einwirkung des Ozons auf die Keimung fand ich in der Literatur nur eine kurze Notiz von Vogel[1]) vor, wonach das Ozon keinen nachteiligen Einfluß auf den Keimungsvorgang ausüben soll; ob einen fördernden, bleibe unentschieden.

Ich habe bei meinen, eingangs angeführten Vorversuchen beobachtet, daß größere Ozonmengen den Keimungsprozeß schädigen, geringe Mengen dagegen einen günstigen Einfluß auf die Versuchssamen (Erbsen) ausübten; quantitative Ozonbestimmungen habe ich damals nicht gemacht.

Meine jetzigen Versuche habe ich in folgender Weise ausgeführt: Zur Keimung wurden runde Schalen aus Glas, glasiertem Ton oder Porzellan benutzt, bei den Parallelversuchen waren sie stets aus gleichem Material und von gleicher Größe, sie wurden mit gleichen Mengen von ausgeglühtem Quarz- oder Seesand beschickt und mit gleich viel Leitungswasser befeuchtet; die Samen wurden auf die ebene Sandfläche mäßig aufgedrückt. Die Keimschalen wurden unter die Glocken, wie sie bei den Versuchen mit Bakterien beschrieben wurden, gebracht; falls mehr als eine Keimschale zu je einem Versuche benutzt wurde, so wurden sie über einander geschichtet und waren durch V-förmig gebogene Glasröhren von ca. 2 cm Durchmesser voneinander getrennt, so daß die Luft bezw. das Ozon ungehindert Zutritt zu den Samen hatten.

Versuche.

Versuchszeit: 10.—19. Februar.

Je 50 Samen von Raps, Brassica Napus var. oleifera; von Erbsen, Pisum sativum; von Gerste, Hordeum vulgare und von Buchweizen, Polygonum Fagopyrum wurden unter die Glocken gebracht. Durch die eine Glocke wurde täglich durch 9 Tage ein Strom von ozonisierter Luft mit einer Geschwindigkeit von 10 l pro Stunde und 0,6 mg O_3 pro Liter 7 Stunden lang, durch die Kontrollglocke unter denselben Bedingungen gewöhnliche Luft geleitet.

(Schluß folgt.)

1) Vogel, A., Ozon und Keimung (Z. d. bayr. Landw. Ver. 1886. p. 200.)

Neue Ergebnisse auf dem Gebiete der bakteriologischen Wasseruntersuchung.

[Aus dem städtischen bakteriologischen Laboratorium zu Padua.]

Von Dr. med. **Antonio Rodella.**

Bekanntlich stritten sich Bakteriologen und Chemiker lange darüber, ob die Untersuchungen der einen oder der anderen über die Trinkbarkeit eines Wassers besseren Aufschluß zu geben vermöchten. Den Bakteriologen mangelte indes die genügende Ausrüstung. Hatte man doch für geraume Zeit als Maß zur Beurteilung der Trinkbarkeit des Wassers lediglich die Zahl der Bakterien, auf 1 ccm berechnet, angenommen. Nachdem sich aber herausgestellt hatte, daß auch bakterienreiche Wässer ohne Gesundheitsstörung genossen werden können, legte man besonderes Gewicht auf den Umstand, daß die Arten der in einem Wasser befindlichen Bakterien nicht zu verschieden wären. Aber auch dieser Standpunkt, welcher zuerst von Migula vertreten wurde, nach dessen Behauptung eine große Verschiedenheit der Bakterienarten stärkeren Verdacht bei einem Wasser erregen sollte als die Zahl der Bakterien selbst, hat nicht die erhoffte Stütze geliefert. Der Befund von pathogenen Bakterien, die für gewisse Formen von Darmkrankheiten als spezifische Erreger gelten, hat freilich große Bedeutung. Aber man braucht mit der einschlägigen Literatur nicht gerade besonders vertraut zu sein, um zu wissen, wie selten der Nachweis von solchen Bakterien gelingt, und wie oft andererseits Epidemieen entstehen, die auf den Genuß von Wasser zurückgeführt werden müssen, trotzdem sich kein derartiger spezifischer Organismus ermitteln läßt. Selbst wenn wir die in jüngster Zeit erschienenen Lehrbücher der Hygiene zur Hand nehmen und darin das Kapitel der Wasseruntersuchung studieren, gewinnen wir immer wieder den sicheren Eindruck, daß die Frage der bakteriologischen Wasseruntersuchung, ungeachtet der vielen und umfangreichen Arbeiten auf diesem Gebiete, noch auf ihre Lösung wartet. Ich sehe hier davon ab, die Grundsätze für die Beurteilung eines Trinkwassers, wie sie in deutschen Lehrbüchern aufgestellt werden, besonders anzuführen, da sie einerseits dem Leser bekannt sein dürften und andererseits alle mehr oder minder übereinstimmen. Ich möchte mir nur erlauben, die Grundsätze aus dem schönen Lehrbuche von F. Abba[1]), das den Deutschen wahrscheinlich weniger bekannt ist, wiederzugeben, um so mehr, als sich darin hinsichtlich des von mir behandelten Gegenstandes einige Differenzen ergeben werden.

Abba schreibt: „Die Basis für die Beurteilung des Trinkwassers müssen uns bilden: 1) der Rapport zwischen den Gelatine verflüssigenden und nicht verflüssigenden Bakterienkolonieen; 2) die Variabilität der Bakterienarten; 3) das Verhältnis zwischen den Farbstoff bildenden und nicht bildenden Bakterien; 4) das Verhältnis zwischen den Hyphomyceten, Blastomyceten und Schyzomyceten; 5) das Vorhandensein von Bacillen, Kokken und Spirillen; 6) komplexives Studium der Anaërobienarten; 7) die Identifizierung der einzelnen Bakterien; 8) der Befund von pathogenen Bakterien. Es ist hier nicht unsere Sache, die Einwände hervorzukehren, die sich gegen diese Grundsätze erheben ließen, noch auch auf die Brauch-

1) Abba, F., Manuale tecnico di microscopia e batteriologia applicate all' igiene. 2. edizione. Turin (C. Clausen) 1902.

barkeit der einzelnen Forderungen näher einzugehen. Nur bei No. 6 muß ich mich länger aufhalten.

Abba nimmt tatsächlich an, daß das komplexive Studium der im Trinkwasser befindlichen Anaërobienformen deshalb von Bedeutung sei, weil sich bei den genauen Untersuchungen von zwei bekannten italienischen Forschern, Di Vestea und Sclavo, die sich auf eine relevante Zahl von guten Trinkwässern erstreckten, keine Anaërobien nachweisen ließen, obwohl sich nicht wenig Bakterienarten vorfanden. Die zwei genannten Autoren hatten sich bei ihren diesbezüglichen Forschungen der Anaërobienbouillonkulturen bedient. Demnach wäre also gewissermaßen der Schluß berechtigt, daß ein anaërobienhaltiges Trinkwasser nicht zu den guten zu rechnen sei. Ich habe mir die Aufgabe gestellt, diesen Punkt genauer zu studieren und wählte als Objekt meiner Untersuchungen das Wasser der Stadt Padua, das von Dueville, einer Ortschaft in der Provinz Vicenza, in Röhren dorthin geleitet wird. Da es sich hier nur um eine vorläufige Mitteilung handelt, übergehe ich die Einzelheiten hinsichtlich der Quellen und der Leitungen. Erwähnen muß ich aber, daß das Trinkwasser unter stetiger Kontrolle eines Stadthygienikers und -Bakteriologen steht, welche die Berichte über ihre Untersuchungen in zusammenfassenden Uebersichten jedes Jahr veröffentlichen. Ferner ist zu bemerken, daß im Jahre 1880 über die Trinkbarkeit des in Frage stehenden Wassers das Gutachten des Herrn Prof. Canizzaro eingeholt wurde, welcher auf Grund der von ihm vorgenommenen chemischen Untersuchung sich in günstigem Sinne aussprechen mußte.

Die chemische Analyse, welche seit dem Jahre des Bestehens der Wasserleitung regelmäßig gemacht wurde, ergab nur ganz geringe Schwankungen. Ich füge eine Tabelle hier an, welche als Muster für alle anderen dienen dürfte.

Ammoniak	0
Salpetrige Anhydride	0
Salpetersaure Anhydride	Spuren
Chlor	Schwache Spuren
Schwefelsäureanhydrid	Spuren
Trockener Rückstand bei 120°	0,2364 ‰ ccm bei + 15°
Calciumoxyd	0,0813 ‰ ccm bei + 15°
Gesamthärte	23:00
Stetige Härte	4:25
Zeitliche Härte	18:75

Die bakteriologischen Untersuchungen ergaben niemals das Vorhandensein von pathogenen Bakterien, wie Typhus etc. Auch fehlte stets das Coli-Bakterium, obwohl jedes empfohlene Anreicherungsverfahren zur Anwendung kam. Der Befund beschränkte sich immer auf die gewöhnlichen Wasserbakterien, und zwar im Verhältnis von etwa 300 pro Kubikcentimeter; große Schwankungen in der Bakterienzahl wurden nie beobachtet. Das Wasser der Stadt Padua wird von kompetenter Seite als ein sehr gutes Wasser angesehen. Obwohl Padua nicht von Epidemieen durchseucht ist, so sind doch Darmerkrankungen, auch epidemischen Charakters, wie Typhus abdominalis, nicht selten, und gibt deren Entstehungsursache den dortigen Hygienikern manches zu denken. Bei rund 80000 Einwohnern kommen in Padua jährlich etwa 150 Typhusfälle vor, von denen durchschnittlich 20 letal enden.

Da meine Studien auf dem Gebiete der Anaërobien mich immer mehr zu der Ueberzeugung führen, daß für viele Darmerkrankungen bakteriologischen Ursprungs die Anaërobienbakterien verantwortlich zu machen

sind, und daß auch das epidemische Auftreten der genannten Krankheiten auf diese Bakterien zurückzuführen ist, habe ich das Wasser von Padua darauf untersucht. Bis jetzt habe ich 20 Proben aus dem im Nebenzimmer des städtischen Laboratoriums befindlichen Wasserleitungshahn entnommen, und zwar auf folgende Weise. Zuerst sterilisierte ich jedesmal den Hahn sorgfältig mit einer Spirituslampe, ließ dann das Wasser 20 Minuten lang in vollem Strom aus dem Hahn fließen, worauf ich ungefähr 200—300 ccm in einem sterilen Kolben auffaßte. Aus diesem Kolben entnahm ich mittels einer sterilen Pipette 1—4 ccm und tat sie in ein Gruberschen Röhrchen. Die Röhrchen enthielten ungefähr 10 ccm sterilen Wassers und kleine Würfel von bei 100° eine halbe Stunde lang 3 Tage hintereinander sterilisiertem Rinderblutserum, wobei das Wasser ungefähr das 10-fache vom Volumen des Rinderblutes hatte. Nach 3- bis 4-wöchigem Aufenthalt bei 37° im Brutschrank wurden die Röhrchen geöffnet und ein Teil des Materials zu Tierversuchen, ein anderer zur Anlage von Kulturen zwecks Isolierung der Anaërobienbakterien verwendet. Gleichzeitig wurden auch immer mikroskopische Präparate in hängenden Tropfen, und auch gefärbt, hergestellt. In den hängenden Tropfen ließen sich stets reichlich Kokken und Bacillen wahrnehmen. In vielen Fällen war das Präparat buchstäblich von freien Sporen besät. Die sporenhaltigen Bacillen hatten fast ausschließlich eine Trommelschlägerform; die Stäbchen, welche die Sporen trugen, wiesen häufig Einschnürungen auf. Anaërobien wurden kulturell fast regelmäßig nachgewiesen. Allerdings ist dieser Befund in hygienischer Beziehung vorläufig schwer zu verwerten, andererseits sind die 20 von mir angestellten Untersuchungen nicht genügend, um daraus allgemeine Schlüsse ziehen zu können. Gegenwärtig bin ich damit beschäftigt, auch das Eis, welches aus Bächen und anderen Gewässern nach Padua geliefert wird, auf Anaërobien zu untersuchen und hoffe daraus interessante Ergebnisse zu erzielen.

Auf alle Fälle scheint mir der hier mitgeteilte Befund, daß das Paduaner Wasser in einem verhältnismäßig geringen Volumen Anaërobien enthielt, nicht ohne Bedeutung. Wie ich schon erwähnt habe, wollen Di Vestea und Sclavo nachgewiesen haben, daß das Vorhandensein von Anaërobien in einem Trinkwasser dasselbe als ungenießbar oder wenigstens als verdächtig erscheinen lassen müsse. Aus meinen Untersuchungen ergibt sich dieser Schluß nicht mehr als stichhaltig. Denn wenn das Paduaner Wasser auch nicht als ein ideales angesehen werden muß, so haben wir doch bis jetzt keinen Grund, dasselbe als schlecht zu verwerfen. Wenn ich auch auf die hygienische Bedeutung der gewonnenen Resultate hier nicht näher eingehe, was ich nach Abschluß meiner Untersuchungen tun werde, schien mir eine vorläufige Mitteilung schon deshalb angezeigt, weil die bisher angewandte Technik in der Wasseruntersuchung in dem noch zu erforschenden Gebiet der Frage der Anaërobienbakterien niemals einen Schritt hätte vorwärts machen können. Durch das hier angegebene Verfahren, das zuerst von Passini-Wien mit Erfolg zur Untersuchung der anaërobischen Darmflora benutzt wurde, wird dies sicher ermöglicht. Ich muß aber darauf hinweisen, daß zur Feststellung von Anaërobienbakterien im Wasser stets die Anwendung der Technik nötig ist, die ich an anderem Orte angegeben habe, hier aber trotzdem wiederholen muß. Nach der Oeffnung der Gruberschen Röhrchen, welche im Thermostaten 3—4 Wochen lang gehalten werden müssen, sind zur Isolierung der Anaërobien nicht allein die Burrischen Röhrchen in Betracht zu ziehen, man muß vielmehr, wie ich es besonders

hervorgehoben habe, nach der Einsaat des Materials in den Agar auch etwa ein paar Kubikcentimeter des Materials nach der Botkinschen Methode untersuchen. Das geschieht in der Weise, daß ein Milchkolben mit 1 ccm des Materials direkt infiziert wird, ein anderer Kolben erhält 1 ccm des Materials, das zuerst in ein Burrisches Röhrchen eingesät wurde. Diese Technik, welche allerdings etwas zeitraubend ist, kann als eine allgemeine gelten und erzielt Resultate, welche mit den bei den bisher angewandten Methoden gewonnenen nicht zu vergleichen sind.

Wenn wir uns die einschlägige Literatur ansehen, so finden wir selbst in den besten Werken den Befund von Anaërobien im Wasser als etwas ganz Außergewöhnliches. Meines Wissens ist z. B. nur hier und da der Bacillus enteritidis sporogenes Kleins, welcher sicher mit gewissen Verdauungsstörungen in ätiologischer Beziehung steht, in verunreinigtem Wasser ermittelt worden. Die pathogenen Anaërobien: Bacillus tetani und Bacillus oedematis maligni sind zwar mehrfach nachgewiesen worden, so von Lortet, Roux u. a., aber nicht in laufendem Wasser, sondern im Schlamme. Ich zweifle nicht, daß die bekannten und noch andere unbekannte pathogene Anaërobien mittels des obenerwähnten Verfahrens sich viel öfter feststellen lassen werden, und dies wird immer mehr zu Gunsten der von mir schon vor 3 Jahren aufgestellten These sprechen, daß die krankheitserregenden Bakterien für Darmkrankheiten nicht ausschließlich in der Coli-Gruppe und unter den aërob wachsenden Bakterien zu suchen sind.

Roux[1]) hat in seinem Lehrbuche, obgleich er sich nur mit den Methoden zum Nachweis der Aërobienbakterien beschäftigen wollte, eine gedrängte Anweisung zur Ermittelung der Anaërobien eingefügt, weil zwei Anaërobien, der Bacillus septicus von Pasteur und der Bacillus tetani von Nicolaier, sich sehr oft vorfänden, sei es im Wasser selbst oder vielmehr in der Ablagerung, dem Schlamm und Unrat auf dem Boden der Wasserläufe und sogar der Filtrierbassins. Ich will diese Anleitung hier übersetzen, um die bisher angewandten Methoden zur Isolierung der Anaërobien kurz zu veranschaulichen.

a) „Nachweis des Tetanusbacillus von Nicolaier.

Handelt es sich um die Ermittelung dieses Bacillus in den Ablagerungen oder im Schlamm, so besteht das einfachste Verfahren in der subkutanen Impfung von Ratten und Meerschweinchen mit einigen Centigrammen (ca. 10 cg auf 100 g lebendes Gewicht). Ein Teil der Tiere geht an Blutvergiftung zu Grunde, und der Bacillus septicus läßt sich in den verschiedenen Organen, insbesondere im Blut und am Peritoneum nachweisen; ein anderer Teil bleibt gesund, der Rest wird unter Tetanuserscheinungen verenden und läßt sich in diesem Falle das Vorhandensein des charakteristischen Bacillus an den Impfstellen konstatieren und damit in entsprechenden Böden und unter Anwendung des geeigneten Verfahrens zur Kultur schreiten. — Wenn wir aber den Bacillus von Nicolaier aus dem Wasser selbst zu ermitteln haben, so ist der erwähnte modus operandi unpraktisch, denn man müßte dem Versuchstier fabelhafte Mengen der Flüssigkeit beibringen, um dessen Tod herbeizuführen. Wir sind demnach hier gezwungen, zu den Kulturen unsere Zuflucht zu nehmen. Ich habe zu diesem Behufe bisweilen das Verfahren von Hans Buchner angewandt, das durch seine Einfachheit besticht und lediglich darin besteht, daß man das Kulturröhrchen in ein

1) Roux, G., Précis d'analyse microbiologique des eaux. 1892.

anderes Röhrchen bringt, welches mit einem Kautschukpfropfen verschlossen wird und das ein Gemisch von 1 g trockener Pyrogallussäure des Handels und 10 ccm einer 1:10-Kalilösung enthält. Das Oxygen der gesamten Atmosphäre der beiden Tuben, von denen die innere einfach mit Watte geschlossen ist, wird durch die alkalische Lösung der Pyrogallussäure absorbiert und durch ein wenig Kohlensäurestickstoff sowie durch eine ganz geringe Quantität von Kohlenoxyd ersetzt. Ich muß gestehen, daß ich nach dieser Methode auf Gelatine nur wenig Arten fakultativer Anaërobien erzielt habe, nie aber strenge Anaërobien. Ich habe mir bei dem hier angewandten Verfahren die Luftleere auch durch ein Saugrohr oder vielmehr durch die Quecksilberluftpumpe verschafft, mit oder ohne Ersatz der Luft durch ein passives Gas. Es ist hierzu eine ganz geringe Modifikation meiner Versuchsröhrchen, die nach doppelter Zusammenschnürung an der Lampe versiegelt werden, genügend. — Miquel empfiehlt die Fläschchen von Freudenreich oder kleine Versuchsröhrchen, die Gallerte oder Bouillon von 2 cm Höhe enthalten, welch letztere mit paraffiniertem Vaselin von gleicher Dicke bedeckt werden. Mit Rücksicht auf die Temperaturen, denen die Kulturen ausgesetzt werden müssen, ist diese Decke nach folgenden Formeln herzustellen: a) Vaselin 98, Paraffin 2; b) Vaselin 90, weißes Wachs 8, Paraffin 2. Letztere ist für die höheren Temperaturen. Die Behälter mit den derart zubereiteten Nährböden werden im Brutschrank auf 45° gehalten, bis die weiße Isolierdecke geschmolzen ist und das Aussehen einer völlig klaren Flüssigkeit angenommen hat. Dann bringt man die zu untersuchende Flüssigkeit mittels einer sich allmählich verjüngenden, zugespitzten Pipette in den Nährboden, indem man an der Zuspitzung während des Einlaufes des zu analysierenden Wassers eine langsame Eindrucksbewegung in Kreisform macht, um es dadurch möglichst gleichmäßig in der Gelatine zu verteilen. Man muß stets darauf Bedacht nehmen, daß bei einer Einsaat zwecks Nachweises von Anaerobienarten stets das 100-fache des Wasserquantums bei Aerobien zu nehmen ist. Was im besonderen den Tetanusbacillus betrifft, so hält Miquel das zu untersuchende Wasser erst 1 Stunde lang auf 70°, hierauf läßt er die Einsaat in peptonisierter Gelose folgen, der 2 Proz. Zucker beigegeben wurden. Man verfolgt nun aufmerksam die Entwickelung der weißfarbigen Kolonieen, insbesondere derer mit Watteform. Im geeigneten Moment hebt man ein Stückchen einer derartigen Kolonie heraus, untersucht es unter dem Mikroskop und sät es dann entweder mittels Einstich in Gelatine oder in Bouillon, selbstverständlich immer unter Luftabschluß.

Hat man es mit dem Mikroben von Nicolaier zu tun, so zeigt er sich unter dem Mikroskop in der Form eines Bacillus mit starker Endspore, die ihm das Aussehen einer kurzen Stecknadel verleiht. Seine Kultur in Gelatine ähnelt der Form eines Ofenwischers und ist nicht sehr verschieden von der Kultur des Schweineklauenseuchebacillus. — In jedem Fall wird die Impfung von Tieren mit Bouillonkulturen die diagnostische Frage sofort entscheiden, indem sie bei ihnen binnen kurzem Tetanuserscheinungen hervorruft. — Nach Miquel ist der Bacillus von Nicolaier sehr häufig im Wasser der Seine und Marne, wie auch in den Kloakenwässern; ich habe schon bemerkt, daß das Wasser der Rhone diesen Bacillus in bedeutenden Mengen ablagert, das gleiche tun die Niederschläge mineralischen Ursprungs in den Filtrierbassins von Saint-Clair. — Herr Prof. Lortet hat gelegentlich seiner bakteriologischen Studien über den Schlamm des Toten Meeres beständig fruchtbare Kolonieen erzielt, die einen Mikroben der gasbildenden Gangrän und den Tetanus-

bacillen enthielten, dessen Identität durch positive Impfung von Tieren dargetan wurde.

b) Nachweis des septischen Vibrio (Bacillus septicus Pasteur). Die septische Vibrione wird auf dem Boden vorgefunden, wo Pasteur ihm zuerst entdeckt hat, wenn er auch schon 1872 von den Herren Goze und Feltz als gewöhnlicher Begleiter des Bacillus von Nicolaier angesehen wurde. Es ist also nicht zu verwundern, wenn der Bacillus septicus sich in Wasser nachweisen läßt, das direkt über den Boden geflossen ist, oder vornehmlich im Schlamm und Unrat, wo sein Bedürfnis nach Anaërobiose befriedigt wird und deshalb seine Existenzbedingungen leichter gegeben sind. Ich kann hier nur wiederholen, was ich vom Tetanusmikroben gesagt habe, daß nämlich der Nachweis desselben in Fluß- und anderen Ablagerungen leicht ermöglicht wird mittels Einimpfung des natürlichen Schlammes unter die Haut von Tieren, insbesondere von Meerschweinchen. Dies ist übrigens auch die von Pasteur zuerst angewandte Methode zur Ermittlung des Bacillus septicus. Der Tod tritt rasch ein und außer den klassischen Verletzungen läßt sich die Anwesenheit der charakteristischen Bacillen im Blut und in den Organen, insbesondere an der Innenseite des Peritoneums feststellen. Wir haben aber hier ein schlagendes Beispiel der heutzutage wohlbekannten Tatsache, daß die pathogene Wirkung gewisser Mikroorganismen hauptsächlich von ihrer Dose abhängt, d. h. von der Menge der Individuen, die auf einmal dem tierischen Organismus zugeführt werden.

Wie beim Tetanus, ist auch hier die Einimpfung in natura unanwendbar, wenn es sich um das Wasser selbst handelt, auch wenn dieses eminent pathogene Arten enthielte, weil dieselben zu verdünnt und zerstreut sind. Ich habe mich im vergangenen Jahr überzeugen wollen, ob es nicht möglich wäre, mittels Einimpfung in die Venen bei Kaninchen den bakteriotoxischen Koeffizienten irgend eines Wassers zu bestimmen, wie es zuerst Prof. Bouchard u. a. nach ihm mit dem Harn getan haben. Die gewonnenen Resultate widersprachen sich ganz und gar, und ich konnte für den Augenblick zu keinem anderen Schlusse kommen, als daß man in die Venen von Kaninchen sehr schmutziges, bakterien- und anorganischen Materien reiches Wasser, von einem Schlachthauskanal herrührend, injizieren kann, ohne sie viel schneller zu töten als mit reinstem Wasser. Hat man also den septischen Vibrio im Wasser nachzuweisen, so ist die mit Schlamm anwendbare Methode der Impfung zu verwerfen und man hat zu den Kulturen Zuflucht zu nehmen, wobei man aber nicht aus dem Auge lassen darf, daß der Bacillus septicus ein wirkliches Anaërobium ist, das zu seinem Wachstum einen Boden erfordert, von dem jede Spur von Oxygen ferngehalten ist. Die Sporen können der Luft ausgesetzt werden, ohne dadurch zu Grunde zu gehen, sind aber unfähig, unter solchen Bedingungen zu keimen. Man kann sich behufs Isolierung dieses Bakteriums mit Vorteil der verschiedenen Anaërobienkulturverfahren bedienen, wie sie von E. Roux vom Institut Pasteur empfohlen werden, und zwar in den Jahrbüchern dieses Instituts. Es ist jedoch wohl zu beachten, daß sich in den künstlichen Nährmedien die langen gegliederten Fäden nicht vorfinden, wie man sie im Blut und insbesondere auf der Oberfläche des Peritoneums von geimpften Tieren antrifft, ferner daß sich keine so deutlichen Bewegungen mehr wahrnehmen lassen. Da der septische Vibrione erst bei einer Temperatur von 37° sich mit einer gewissen Energie entwickelt, so muß zu seiner Isolierung die Gelose verwendet werden. Die Kolonieen erscheinen dem bloßen Auge zuerst als kleine, weiß-

liche, wolkige Flecken mit wenig deutlichem Rande, die sich in der Gallerte verlieren. Unter einer Vergrößerung von 80—100 Diametern bemerkt man an der Kolonie (Macé) einen homogenen mittleren Teil, von dem zahlreiche Verästelungen ausgehen, die sich verjüngen und in der umliegenden Gallerte verlieren. — Bringt man in deren Tiefe ein Gelatineröhrchen nach dem von Vignal angegebenen Verfahren, so bemerkt man innerhalb 2 oder 3 Tagen bei 20° am unteren Teile des Röhrchens kleine Kügelchen von $^1/_2$—1 mm Durchmesser, voll klarer Flüssigkeit. Diese, ganz hell am Anfange, wird trübe und zeigt an der Peripherie feine strahlenförmige Strichelungen oder schwache Verästelungen. Wird Gelose in gleicher Weise eingeführt, so zeigen die in der Gallerte zerstreuten Kolonieen ein feines verästeltes Netz, analog dem in der Gelatine beobachteten."

Die von mir vorgeschlagene Methode zur Wasseruntersuchung erleichtert nicht nur die Auffindung der pathogenen Anaërobienarten, sondern hat auch den Vorteil, daß sich durch dieselbe auch die nicht pathogenen Anaërobien ermitteln und zum genauen Studium heranziehen lassen, was für die Lösung dieser Frage von großer Bedeutung sein dürfte.

In der Tat haben unsere Kenntnisse der Mikroorganismen im allgemeinen uns zu der Ueberzeugung geführt, daß dieselben nicht nur eine große medizinische, sondern auch eine technisch-gewerbliche Bedeutung haben. Man weiß heutzutage, daß technisch nützliche und schädliche Mikroben existieren. Aus diesem Grunde legt man in allen jenen Gewerben, welche auf der Lebenstätigkeit von Mikroorganismen begründet sind, großen Wert darauf, eine genauere Erkenntnis nicht nur der Zahl, sondern auch der verschiedenen biologischen Eigenschaften der in Frage kommenden Mikroben sich zu verschaffen.

Für die technisch-mykologische Wasseranalyse viel mehr als für die hygienischen Wasseruntersuchungen ist es absolut notwendig, alle im Betriebswasser sich befindlichen Lebewesen genau zu kennen und über ihre biologische Bedeutung genügend orientiert zu sein. Jedermann wird aber zugeben müssen, daß dieselben Organismen für die einzelnen Gewerbe verschiedene Bedeutung haben, ferner daß für bestimmte Zweige auch nur bestimmte Organismen wichtig sind, und daß nur gewisse Organismen bei bestimmten Gewerben passende Lebensbedingungen finden.

Schon daraus ergibt sich, wie H. Wichmann richtig betont, daß die technisch-mykologische Wasseranalyse nicht nach einer einheitlichen Methode ausgeführt werden kann, sondern daß sich jeder Zweig der Technik auch seine eigene Methode der Wasseranalyse ausarbeiten muß, welche allen jenen besonderen biologischen Verhältnissen Rechnung zu tragen hat, um die Grundlage für die eigenartige Beurteilung geben zu können.

Die hier weiter oben vorgeschlagene Methode dürfte indes für jede technisch-mykologische Wasseranalyse als unentbehrlich betrachtet werden, in erster Linie, weil sie strenge Anaëroben zu Tage fördert; und bekanntlich besitzen diese Mikroorganismen im allgemeinen ein großes Gärungsvermögen. Dank der oben erwähnten Methode, kommen auch fakultativ anaerobe Arten zum Vorschein, die ebenfalls stark gärungserregend wirken und die sich sonst den üblichen Verfahren für Wasseruntersuchungen leicht entziehen.

So wurden z. B. in dem Paduaner Wasser mit den üblichen Untersuchungsmethoden nur B. fluorescens liquefaciens, B. albus, Micrococcus candicans, Micr. roseus und Cladothrix dichotoma gefunden. Ausnahmsweise war einige Male auch B. Titzianus

vorhanden. Mit dem bereits angegebenen Verfahren konnte ich dagegen neben 2 sporenbildenden Anaëroben, die ich unter die bekannten Arten nicht klassifizieren konnte, auch fakultative Anaëroben finden, die ebenfalls ein hohes Gärungsvermögen besitzen. Ein näheres Studium derselben konnte ich wegen Zeitmangel nicht unternehmen, da ich gegenwärtig mich mit anderen Fragen beschäftigen muß.

Aber selbst in hygienisch-medizinischer Hinsicht förderten meine Untersuchungen manches zu Tage, das nicht unerwähnt bleiben soll.

So heißt es z. B. jedesmal im Bulletin für Wasseranalyse der Stadt Padua: Pathogene Mikroorganismen nicht nachweisbar. Ich konnte mich de visu überzeugen, daß die Untersuchungen im hiesigen Laboratorium sehr genau gemacht werden.

Die Resultate, die ich mit dem hier vorgeschlagenen Verfahren erzielt habe, stimmen jedoch mit den letztgenannten nicht überein.

Die subkutane Impfung meiner Kulturen rief bei 6 Mäusen in kurzer Zeit den Tod hervor. 3 Kaninchen, ebenfalls subkutan geimpft, erkrankten ziemlich schwer. An der Stelle der Impfung zeigte ein Kaninchen einen hühnereigroßen, harten, nicht fluktuierenden Absceß. Nach 8 Tagen, da immer noch keine Fluktuation vorhanden war, schnitt ich den Absceß und mittels einer Pinzette konnte ich, gleich einer Schnur, eine verschiedene Centimeter lange, klebrige Masse herausnehmen. Die direkte mikroskopische Untersuchung dieses Materials ergab das Vorhandensein von Gram-positiven Kokken, von reichlichen Sporen, ferner von einigen schwach gefärbten Gebilden, die den Bacillen sehr ähnlich sahen, über deren Natur wir aber uns nicht aussprechen wollen. Die Vorstellungen über die Bedeutung der verschiedenen Mikroorganismen im allgemeinen und insbesondere der streng anaëroben Bakterien als Bewohner des Wassers gehen bekanntlich weit auseinander.

Maljean berichtet über das regelmäßige Vorhandensein des Bact. coli und von zwei Fäulnisanaëroben im Wasser von Châlons sur Marne ohne daß in dieser Ortschaft Typhus oder typhusähnliche Krankheiten häufiger auftreten als an anderen Orten Frankreichs.

G. Fowler (Revue d'hygiene. T. XXVII. 1905. No. 3) meint, daß les bactéries sporogènes anaérobies, considerées par les bactériologistes comme indicatrices du coutage par sewage ne presentent pas, pour les auteurs, d'interêt pratique.

Diese und ähnliche Aeußerungen dürften indessen nicht überall Zustimmung finden. Wichtig scheint uns, um das Zustandekommen von infektiösen Darmkrankheiten zu erklären, die von französischer Seite gemachte Angabe, daß für das Auftreten einer Typhusinfektion die Verletzung der Darmschleimhaut notwendig sei, und daß dieselbe fast regelmäßig von Trichocephalus dispar bedingt wird.

Die im hiesigen Laboratorium bis jetzt daraufhin untersuchten Typhusfälle bestätigten durchaus diese Annahme.

In Anbetracht des häufigen und leichten Vorkommens von Darmschleimhautwunden erwächst für die Hygiene die Pflicht, diejenigen Nahrungsmittel, die roh genossen werden, und insbesondere das Trinkwasser, einer strengeren Kontrolle zu unterziehen.

Ueber Dunkelfeldbeleuchtung.

Von Stabsveterinär C. **Troester**,

Leiter des bakteriologischen Laboratoriums der Militär-Veterinärakademie Berlin.

Bei der Beobachtung von Bakterien im lebenden, also ungefärbten Zustande macht sich die Durchsichtigkeit und Zartheit dieser Organismen recht unangenehm bemerkbar. Während man bei der Untersuchung des gefärbten Präparates mit einer Fülle von Licht arbeitet, muß man beim Beobachten lebender Zellen das Licht stark abblenden und muß dann das Auge noch erheblich anstrengen, um die nur schwach sich abhebenden Gebilde zu unterscheiden. Besonders ermüdend werden derartige Untersuchungen, wenn man sie längere Zeit fortsetzt, wie ich es bei der Beobachtung der Agglutination der Bakterien unter dem Mikroskop tun mußte.

Da habe ich ein Verfahren versucht, welches zwar schon lange bekannt ist, von den Mikroskopikern aber kaum benutzt wird, nämlich die Dunkelfeldbeleuchtung. Bekanntlich erscheint hierbei das Präparat hell auf dunkelem Grunde, und man erreicht diesen Beleuchtungseffekt dadurch, daß man von dem Strahlenkegel, den der Kondensor des Mikroskops liefert, den axialen Teil so weit ausschaltet, daß kein direktes Licht mehr das Okular erreicht. Man bewirkt dies durch Anbringung einer zentralen Blende dicht unter dem Kondensor. Die aus dem Beleuchtungsapparat austretenden Lichtstrahlen durchdringen das auf dem Tische liegende Präparat und gehen in Form eines Kegels weiter, aber aus dem Kegel ist im Innern ein Teil beseitigt, und in diesen dunkeln Teil taucht das Mikroskopobjektiv. Soll dieses frei von direktem Licht bleiben, so darf seine Oeffnung eine gewisse, durch die Ausdehnung des dunkeln Kerns des Lichtkegels gegebene Größe nicht überschreiten. Man wird also bei Objektiven von größerer Oeffnung diese durch Blenden verringern oder eine größere Zentralblende nehmen müssen. Ist die Einrichtung für ein bestimmtes System getroffen, so paßt sie auch ohne weiteres für alle schwächeren Systeme, da bei diesen der Oeffnungswinkel in der Regel kleiner ist.

Mit einer solchen Beleuchtungsvorrichtung sieht man, wenn man als Lichtquelle das zerstreute Tageslicht benutzt, gröbere Objekte mit großer Deutlichkeit; sie heben sich hell leuchtend vom dunkeln Grunde ab. Für Aufschwemmungen von tierischen Zellen oder von Bakterien aber ist diese Beleuchtung viel zu schwach. Man muß also zu den stärksten Lichtquellen greifen, zum Sonnen- oder zum elektrischen Bogenlicht. Wendet man diese Lichtarten direkt an, so zeigen die Bilder ein eigentümlich flimmerndes Aussehen, etwa als wenn sie aus Glasperlen zusammengesetzt wären. Eine vorzügliche Beleuchtung aber erhält man dadurch, daß man das Sonnenlicht einen mit Wasser gefüllten, kugelförmigen Kolben passieren läßt und im Brennpunkt eine mattgeschliffene Glastafel aufstellt. In geringem Abstand hinter dieser Platte steht das Mikroskop und empfängt das von der Mattscheibe ausgehende Licht durch den Hohlspiegel. Bei dieser Beleuchtung sieht man mit einem mittelstarken Trockensystem bei etwa 300facher Vergrößerung lebende Bakterien in Flüssigkeiten mit derselben Leichtigkeit wie in einem gut gefärbten Präparat. Um sich von der Wirksamkeit dieser Beleuchtung zu überzeugen, empfehle ich folgenden Versuch: Man bringe auf einen Objektträger etwas Speichel und Zahnbelag, bedecke mit einem Deck-

glase und untersuche bei der oben beschriebenen Beleuchtung mit einem mittelstarken Trockensystem (etwa D oder DD von Zeiss, No. 6 oder 7 von Leitz). Man wird verschiedene Bakterienformen, Spirillen, Leptothrixfäden, das Tanzen der Körnchen in den Speichelzellen, Plattenepithelien u. s. w. mühelos und mit vollkommener Deutlichkeit sehen. Entfernt man nun die Blenden und untersucht mit gewöhnlichem durchfallenden Tageslicht, so wird man von dem vorher Gesehenen kaum mehr als Andeutungen bemerken und nur bei aufmerksamstem Durchmustern wird man nach und nach alle die Einzelheiten zu Gesicht bekommen, die man vorher mit einem Blick übersah.

Fehlt es an Sonnenlicht, so genügt auch elektrisches Bogenlicht. Man bringt die Kohlenspitzen in den Brennpunkt einer Kondensorlinse von 10 cm oder mehr Durchmesser und stellt in den Gang der austretenden parallelen Strahlen die vorher beschriebene, aus Wasserflasche und Mattscheibe bestehende Beleuchtungsvorrichtung. Die Wirkung ist fast ebenso wie die des Sonnenlichtes.

Natürlich muß man mit dieser Beleuchtungsart sich erst etwas vertraut machen, auch wird man ab und zu den Beleuchtungsspiegel etwas bewegen müssen, namentlich dann, wenn man mit Sonnenlicht arbeitet und keinen Heliostaten hat. Für diese geringe Mühe wird man aber belohnt durch die Klarheit und Schärfe der Bilder, die das Beobachten der ungefärbten lebenden Zellen zu einem Vergnügen machen.

Was die Beschaffung der erforderlichen Blenden anlangt, so pflegen die Optiker eine Zentralblende den Mikroskopen beizufügen. Diese genügt für die schwachen Systeme. Für die stärkeren Trockensysteme sind dann noch Objektivblenden erforderlich, welche von den Optikern auf Verlangen abgegeben werden.

Ich habe auch erfolgreich mit einer Oelimmersion $^1/_{12}$ gearbeitet unter Benutzung einer Zentralblende von 20 mm und einer Objektivblende von 1,5 mm Durchmesser. In neuerer Zeit ist mir eine von der Firma E. Leitz in Wetzlar hergestellte Einrichtung zur Dunkelfeldbeleuchtung bekannt geworden, welche ähnliche Beleuchtungseffekte wie das Ultramikroskop liefert.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 17.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Henneberg, W., Untersuchungen an ruhenden Kulturhefen im feuchten und abgepreßten Zustand. — Ein Beitrag zur Kenntnis des Verhaltens, der Lebensdauer der Hefezellen, der Einwirkung fremder Organismen auf diese, sowie zur Kenntnis der spontanen Infektion, des Verderbens und der Fäulnis der Büchsenhefen. (Wochenschr. f. Brauerei. 1904. No. 41—48.)

Der erste Teil der umfangreichen Untersuchungen bildet die Fortsetzung und Ergänzung zu den (diese Zeitschr. Bd. XIII. 1904. No. 21. Autoreferat) bereits früher mitgeteilten Versuchen mit absoluten Reinkulturen. Von den Ergebnissen mag folgendes hier hervorgehoben sein:

Die Hefen wurden nach der Herzucht in Würze und nach wiederholtem Auswaschen und Abgießen des Wassers in kleinen Flaschen aufbewahrt. Sie bildeten eine dickfließende Masse, die durch Verdunsten des Wassers (Watteverschluß) allmählich eine dickere Beschaffenheit annahm.

Von den untersuchten Hefen lebt die Brennereihefe Rasse XII unter diesen Bedingungen am längsten, dann folgt die Brennereihefe Rasse II und die untergärige Bierhefe Frohberg und zuletzt die obergärige Bierhefe (aus der Hefezuchtanstalt des Instituts). Rasse XII stirbt besonders anfangs viel weniger schnell ab als Rasse II.

Außer von der Heferasse ist die Lebensdauer von der Temperatur abhängig. Bei 30—37° C beträgt diese ungefähr eine Woche und bei 23—30° 3 Wochen (obergärige Bierhefe) bis $4^1/_2$ Wochen (Rasse II und XII). Bei 8—11° sind fast sämtliche Zellen der beiden Brennereiheferassen $4^1/_2$ Wochen am Leben, was bei der obergärigen Bierhefe nur $2^1/_2$ Wochen der Fall ist.

Auch bei diesen Heferassen zeigte es sich, daß, wie schon früher bei anderen Hefen angegeben wurde, die Lebensdauer einiger weniger Zellen viel länger ist, als die der Hauptmenge, daß ferner dieselbe durch längeres Verweilen in der vergorenen Würze bei der Herzucht verkürzt wird, und daß schließlich in größeren Mengen zusammenlagernde Hefezellen früher als kleinere Hefemengen absterben. An der Oberfläche der Hefemasse leben die Zellen auch dieser Rassen länger, als in der unteren Hefemasse.

Rasse II und XII sterben, auf feuchter Watte aufbewahrt, zuerst langsamer, dann aber schneller ab, während letzteres bei der obergärigen Bierhefe gleich von Anfang an der Fall war.

Bei größerem Wasserzusatz wird das Absterben der beiden Brennereihefen beschleunigt. Die obergärige Bierhefe dagegen wird dadurch nicht ungünstig beeinflußt.

Ein Ueberschichten mit flüssigem Paraffin bedingt ein schnelles Absterben der Hefezellen.

In einer Versuchsreihe wurden die Hefemengen von Rasse II und XII vor dem Einfüllen in die Aufbewahrungsflaschen in einem Teil durch Behandlung mit Rohrzuckerlösung mit Glykogen angereichert und nach sorgfältigem Auswaschen des anhaftenden Zuckers auf ihre Lebensdauer untersucht. Die Kontrollproben wurden entsprechend nur mit Wasser behandelt und ebenso oft dann ausgewaschen. Es ergab sich, daß die glykogenhaltigen Zellen dieser Heferassen länger als die glykogenfreien lebten. Dies Ergebnis war vorauszusehen. Glykogen ist selbstverständlich, wie das Fett, ein Reservestoff, wenn es auch für unsere Kulturhefen unter den gewöhnlichen Bedingungen der Herzucht und Aufbewahrung in dem Betriebe von keinem Nutzen ist. Ich stellte nämlich früher (s. diese Zeitschr. Bd. IX. 1902. No. 19) fest, daß das Glykogen nur so lange, wie eine größere Menge Zucker anwesend ist, in den lebenden, in Flüssigkeiten befindlichen Kulturhefezellen nachzuweisen ist und darum von keinem besonderen Nutzen für diese sein kann. Buchner hat dies mißverstanden und angenommen, daß ich Glykogen überhaupt für keinen Reservestoff halte (vergl. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. XLII. Heft 5 u. 6. p. 555).

Unter bestimmten Bedingungen bildeten sich abnorme Zellformen, über die bereits in dieser Zeitschr. Bd. XIII. 1904. No. 5/7. berichtet ist.

Durch Einimpfung von verschiedenen reingezüchteten Bakterien u. s. w. wurde deren Einfluß auf die ruhenden, d. h. nicht gärenden Hefezellen festgestellt. Ohne schädliche Einwirkung waren manche Milchsäurebacillenarten, ferner Bacterium Proteus mirabilis und B. fluorescens liquefaciens. Abgetötet wurde die obergärige Brauereihefe durch Oidium lactis.

Bestimmte Milchsäurebacillenarten, z. B. B. Hayducki und B. Buchneri sind für die obergärige Bierhefe schädlich, indem sie die Zellen abtöten. Besonders empfindlich ist die obergärige Bierhefe aber gegen die Einwirkung der Essigbakterien (B. ascendens, B. aceti?), während dies viel weniger bei den Brennereihefen der Fall ist.

Abgetötet wurden ferner die Zellen von Hefe Frohberg (die übrigen wurden bisher nicht untersucht) durch Bact. coli commune, B. Proteus Zenkeri, B. Proteus Hauseri, B. prodigiosus, B. fluorescens non liquefaciens und Bacillus des Kieler Hafens. Durch die genannten Bakterienarten wird in der Hefemasse eine stark alkalische Reaktion unter reichlicher Ammoniakentwickelung verursacht. Es entsteht bei Einimpfung des B. prodigiosus und des Kieler Bacillus ein unangenehmer Fäulnisgeruch, bei den vier anderen ein deutlicher Käsegeruch.

Zur Untersuchung des Verhaltens der Bakterien gegen Hefeenzyme wurden diese in verflüssigte Reinkulturhefe gebracht. Die Hefe Rasse II war zu diesem Versuche zunächst 24 Stunden bei 50° aufbewahrt. In dieser an Enzymen (Peptase) reichen Flüssigkeit entwickelten sich bei günstiger Temperatur nur B. prodigiosus und der Kieler Bacillus, dagegen kamen B. coli commune. B. Proteus Zenkeri, Hauseri und mirabilis, sowie B. fluo-

rescens liquefaciens und B. fluorescens non liquefaciens nicht auf.

Der zweite, größere Teil der vorliegenden Arbeit wurde den Untersuchungen an abgepreßten Fabrikhefen gewidmet. Dieser Teil bildet die Fortsetzung und Ergänzung der in dieser Zeitschrift, Bd. XIII. 1904. No. 4, mitgeteilten Untersuchungen, indem die Versuche an Hefen bei niedrigeren Temperaturen vorgenommen wurden. Es sollte vor allem die Frage nach der Ursache des Verderbens der abgepreßten Hefen eine Beantwortung finden. Da nun in der Fabrik hergezüchtete Hefen stets, auch wenn sie noch so vorschriftsmäßig und sauber behandelt wurden, mehr oder weniger stark mit den verschiedenen Pilzen, wie Penicillium, Oidium, Kahmhefe, Milchsäurebacillen u. s. w. infiziert sind, so ist es eine große Schwierigkeit, den Einfluß der einzelnen Arten festzustellen. Sehr leicht könnte letzteres geschehen, wenn man auf größere Mengen, genau wie in der Fabrik gezüchteter und abgepreßter absoluter Reinkulturhefe die genannten Pilze einzeln einwirken lassen könnte. Da dies aber ganz unmöglich ist, wurde teils durch die Menge der Untersuchungen und teils durch das Studium der Einwirkungen der betreffenden Pilze auf möglichst von der Flüssigkeit getrennte Hefe in absoluten Reinkulturen (s. diese Zeitschr. Bd. XIII. No. 21 und den ersten Teil des vorliegenden Referats) zu sicheren Schlüssen zu kommen versucht. Aus den Ergebnissen der zuletzt genannten Untersuchungen lassen sich, da die Verhältnisse bei den fest abgepreßten Hefemengen doch andere sind, natürlich nicht ohne weiteres Schlußfolgerungen auf diese ziehen, sondern sie dürfen nur zum Vergleich herangezogen werden.

Wie früher, so dienten auch diesmal fast ausschließlich die in der Versuchsbrauerei und in der Hefezuchtanstalt gezüchteten Hefen als Material zu den Untersuchungen. Es wurden also zu den Versuchen eine hochvergärende untergärige Bierhefe, die in dem Gärbottich langsam (in ca. 10 Tagen) und bei niedriger Temperatur (ca. 5° C) herangewachsen war, ferner eine nach dem Lüftungsverfahren in 2 Tagen hergezüchtete obergärige Bierhefe und die fast ebenso gewonnenen zwei Brennereiheferassen (Rasse II und XII) benutzt.

Diese Hefen wurden gleich nach der Abpressung in der Fabrik in kleinere Glascylinder mit eingeschliffenem Glasstopfen fest eingepreßt oder blieben in festgepreßtem Zustand in den Versandbüchsen (meist 1 kg) zur Beobachtung ihrer Haltbarkeit.

A. Beobachtungen an den Hefezellen.

Im allgemeinen lebt Rasse II (an der Oberfläche der Hefemasse) am längsten, es folgt dann Rasse XII (in der Tiefe), etwas weniger lange lebt die obergärige Bierhefe und am kürzesten die untergärige Bierhefe. Bei letzterer Hefe kann die oben erwähnte gänzlich andere Herzucht dies verursachen.

Je höher die Temperatur ist, desto kürzere Zeit bleiben die Hefezellen natürlich lebensfähig. So lebt z. B. bei 20° C und darüber die untergärige Bierhefe etwa 20, die obergärige Bierhefe 35 und Rasse XII 38 Tage; bei 10° C die beiden erstgenannten Hefen 80 und Rasse XII 100 Tage. Es ist bemerkenswert,

daß schon ganz geringe Temperaturunterschiede große Verschiedenheiten in der Lebensdauer verursachen.

Sehr interessant ist die Abhängigkeit der Lebensdauer von der Lage in der Hefemenge, was durch den Zutritt der Luft, durch die Infektion und den Einfluß der Stoffwechselprodukte auf die Hefezellen zu erklären ist. Die untergärige Bierhefe und die beiden Brennereihefen sterben normalerweise an der Oberfläche langsamer als in der unteren Hefemasse ab. Oefters ist der Unterschied sehr bedeutend, so z. B. lebten in einem Versuche bei Rasse II noch 70 Proz., während in der Tiefe sämtliche Zellen bereits abgestorben waren. Im allgemeinen stirbt Rasse II in der unteren Hefemenge schneller ab als Rasse XII. Merkwürdigerweise macht die obergärige Bierhefe eine Ausnahme, da sie normalerweise an der Oberfläche früher als in der Tiefe abstirbt. An den verschiedenen Stellen in der festgepreßten Hefemasse tritt übrigens, wohl infolge der ungleichen Verteilung der Infektion, das Absterben durchaus nicht gleichzeitig ein.

Wasserzusatz zur Oberfläche wirkt bei den Bierhefen ungünstig, bei den Brennereihefen dagegen günstig auf die Lebensdauer ein.

Wenn durch Ueberschichtung mit flüssigem Paraffin der Luftzutritt beschränkt wird, so sterben die Zellen der obergärigen Bierhefe schneller, dagegen die der Rasse XII langsamer, was im letzteren Falle wohl auch durch das Fernhalten der Oberflächenvegetation schädlicher Pilze veranlaßt wird.

Andererseits übte reichlicher Luftzutritt (Watteverschluß statt des Glasstopfens) bei Rasse II keinen besonderen, bei der obergärigen Bierhefe einen ungünstigen, und bei Rasse XII je nach dem Infektionsgrad einen bald günstigen, bald ungünstigen Einfluß aus. Durch die stärkere und sich überall einfindende Infektion dürfte auch das frühzeitige Absterben der nur lose in das Gefäß eingebrachten Hefe (Rasse XII) bedingt werden. Sauerstoffentziehung durch Pyrogallollösung ließ die Zellen von Rasse II an der Oberfläche frühzeitiger absterben.

Schließlich ist aber das Absterben der Zellen auch von der Art der Infektion abhängig:

Ohne besonderen Einfluß sind Kahmhefen, Pediokokken und Fäulnisbakterien. Letztere entwickeln sich erst nach dem Absterben der Hefemenge. Eine dichte Decke von Oidium lactis auf der Oberfläche der Hefemasse wirkte bei den beiden Brennereihefen merkwürdigerweise günstig auf die Lebensdauer, sie war dagegen bei den Bierhefen ohne bestimmten Einfluß. Als schädlich, d. h. von abtötender Einwirkung, erwiesen sich Essigbakterien, und zwar besonders bei Bierhefen, manche Milchsäurebakterienarten und Penicillium glaucum. Letztere Art tötet infolge ihres Oberflächenwachstums natürlich zunächst die an der Oberfläche befindlichen Zellen.

Erwähnenswert ist, daß bei den Bierhefen niemals Sporen beobachtet wurden. Eine öfters ziemlich reichliche (bis zu 5 Proz.) Sporenbildung fand sich dagegen bei 16—27° nach einiger Zeit bei Rasse XII, seltener bei Rasse II. Selbstverständlich tritt dies nur an den Oberflächenzellen ein. Letztere werden auch bis ca. $^3/_4$ cm tief unter der Oberfläche bei sämtlichen vier Rassen

sehr häufig äußerst fettreich. So waren z. B. bei Rasse XII bei 6—27° 5—10 Proz. und bei den Bierhefen bei 16—25° bis 80 Proz. Fettzellen vorhanden. Unter 15° konnte keine Fettbildung bei den Bierhefen beobachtet werden. Je wärmer innerhalb gewisser Grenzen die Temperatur ist, desto schneller bilden sich die Fettansammlungen (z. B. bei Rasse XII bei 27° bis zum 9. Tage, dagegen bei 6° erst bis zum 40. Tage). Ferner verhalten sich die Hefen der verschiedenen Sude verschieden, manche sind fettreich, andere fettarm (Rasse XII, obergärige Bierhefe). Da die Fettbildung nur an der Oberfläche, also nur bei reichlichem Luftzutritt, stattfindet, wird sie durch Paraffinüberschichtung völlig verhindert. Wasserzusatz wirkt günstig. Bei der Selbstverdauung nach dem Tode der Zellen bleibt das Fett erhalten, indem es zu einigen, schließlich meist zu einem einzigen großen Tropfen zusammenfließt. Da die Zellen ohne Nahrung lagern, so muß das Fett unter dem Einfluß der Luft aus dem Eiweiß der Zelle entstehen.

Durch Schrumpfung verlieren die toten Zellen der obersten Hefemenge häufig ihre ursprüngliche Gestalt.

Unter der Einwirkung des Penicilliums kann die Zellwand völlig wegggelöst werden, so daß der Inhalt freigelegt wird.

In einem Versuch mit Rasse XII hatten nur noch 5 Proz. Zellen eine Membran. Uebrigens schienen die Hefen mancher Sude in verschiedener Weise, früher oder später, dieser Einwirkung des Penicilliums zu unterliegen, was vielleicht auf eine verschieden starke Zellhaut deutet.

Die in der Tiefe der Hefemenge lagernden Zellen zeigen keine Sporen und keine Fettbildung, ferner keine Auflösung der Zellhaut, sowie meist keine Veränderung der Zellform durch Schrumpfung.

Sowohl auf der Oberfläche wie in der Tiefe, und zwar hier besonders häufig, finden sich bei sämtlichen Rassen, wenn die Hefe längere Zeit gelagert hat, kranke oder sterbende Zellen. Diese sind dadurch gekennzeichnet, daß sie etwas geringere Abmessungen, helleres Plasma, stärker hervortretende Eiweißkörnchen und Fetttröpfchen zeigen und sich nicht mehr fortpflanzen können.

Gegen dünne Anilinfarben verhalten sie sich wie normale Zellen, ebenso besitzen sie, wie diese, eine Vakuole. Ein Uebergang zu solchen Zellen wird durch die nur sehr langsam und sehr wenig sprossenden dargestellt (matte Zellen). Die kranken Zellen werden, in Würze eingebracht, innerhalb eines Tages fast sämtlich durch Plasmakontraktion doppelwandig, sterben also meist schnell ab.

Wie in einer besonderen Mitteilung bereits erwähnt wurde, finden sich auch hier manchmal abnorm große Zellen nach dem Absterben der Hauptmenge, und zwar nur bei niedrigeren Temperaturen. Da diese Zellen sich erst gebildet haben, kann also unter Umständen eine geringe Vermehrung der Zellen in der lagernden Hefemasse stattfinden.

Durch Einwirkung der Essigbakterien tritt eine Gerinnung des Plasmas ein, die spätere Selbstverdauung wird aber dadurch in diesen Zellen nicht aufgehoben.

Die Selbstverdauung geht bei 6—9° nur äußerst langsam vor sich. Bei der untergärigen Bierhefe ist sie auch bei etwas höherer Temperatur, bei 18—22°, nur sehr langsam. Ein Jahr alte Hefen sind

bis auf geringe Plasmareste und Fetttröpfchen völlig leer. Die Zellhaut bleibt erhalten, wenn sie nicht durch Penicillium aufgelöst wurde.

B. Beobachtungen an der Hefemenge.

Die trocken abgepreßte Hefemasse wird allmählich weich und schließlich flüssig.

Das Weichwerden der Hefemenge beruht vor allem auf dem nach dem Tode der Zelle eintretenden Ausfließen des Vakuolsaftes.

Am frühesten wird die untergärige Hefe, dann die obergärige Bierhefe und Rasse II, zuletzt Rasse XII flüssig. Je wärmer die Hefe lagert, desto schneller wird sie natürlich weich und flüssig. Bei ca. 22° sind die genannten Hefen, mit Ausnahme der untergärigen Hefe, am 15. Tage weich und ungefähr am 30. Tage flüssig. Die untergärige Bierhefe ist bei dieser Temperatur bereits am 4. Tage weich und am 17. Tage flüssig. Bei ca. 15° ist Rasse XII und die obergärige Bierhefe am 23. Tag weich und erst am 62. Tag flüssig, die untergärige schon am 17. resp. 30. Tage. Unter 10° sind die betreffenden Zahlen bei Rasse XII 78 und 100, bei der obergärigen Bierhefe 55 und 105, und bei der untergärigen 9—42 und 45—73. (Durchschnitt aus vielen Versuchen.)

Im allgemeinen ist die Hefemenge von desto festerer Beschaffenheit, je mehr Zellen im normalen, lebenden Zustand sind. Rasse XII war z. B. noch fest bei 78 Proz. (an der Oberfläche) — 58 Proz. (in der Tiefe) aussprossenden Zellen, weich bei 40—51 Proz., dickflüssig bei 6—17 Proz. und flüssig bei völligem Mangel an aussprossenden Zellen. Rasse II war weich bei 80—34 Proz., dickflüssig bei 33—0 Proz. und flüssig ebenfalls bei völligem Mangel an aussprossenden Zellen. Die obergärige Bierhefe war weich bei 88—86 Proz., dickflüssig bei 60—19 Proz. und flüssig bei 0—5 Proz. Schließlich war die untergärige Hefe weich bei 85—69 Proz., dickflüssig bei 71—50 Proz. und flüssig schon bei 28—27 Proz. aussprossender Zellen.

Letztere Hefe ist also trotz einer noch großen Anzahl sprossender Zellen schon frühzeitig weich bezw. flüssig. Es mag an dieser Stelle erwähnt sein, daß diese, sowie sämtliche an anderen Stellen dieser Arbeit genannten Zählungen stets so vorgenommen wurden, daß in vier verschiedenen Verdünnungen die zu untersuchende Hefe in hängenden Würzetröpfchen (nach Lindner) ausgesät wurde. Nach 24 Stunden wurden die geeigneten Tröpfchen, d. h. solche, bei denen die Zellen recht gut verteilt waren, ausgewählt und in diesen die Zahlen der ausgesproßten Zellen festgestellt. Wenn dies gleichzeitig in einigen Tröpfchen stattgefunden hatte, erhielt man gut übereinstimmende Durchschnittszahlen. Oft mußte sowohl von der oberen als auch von der unteren Hefemenge eine Probe zur Zählung genommen werden, da die Zahlen, wie aus obigem ersichtlich ist, oft recht verschieden sind.

Hervorzuheben ist hier noch, daß bei völligem Mangel an fortpflanzungsfähigen Zellen die Hefemenge nicht immer dünnflüssig zu sein braucht. Die kranken oder sterbenden Zellen besitzen nämlich, wie oben schon gesagt, noch eine Vakuole, also noch Zellsaft, und ebenso halten die toten Zellen zunächst noch Wasser zurück. Das Wasser tritt, wie aus den nach und nach kleiner werdenden Abmessungen zu erkennen ist, nur allmählich durch die Zellwand aus der Zelle heraus.

Das Absterben der Hefe geht im allgemeinen mit dem Flüssigwerden Hand in Hand. Bei Anwesenheit von Essigbakterien, die sich meist an der Oberfläche zuerst einfinden, stirbt die Hefemenge zunächst an der Oberfläche ab, wird hier also zuerst flüssig. Ist das Absterben in der unteren Hefemenge zuerst aufgetreten, so findet hier zuerst ein Weichwerden und eine Verflüssigung statt.

Bei einigen Versuchen mit Aufbewahrung der Hefe in Pergamentpapier („gepfundete Hefe") statt in Büchsen oder Glasgefäßen, konnte festgestellt werden, daß ein langsames Eintrocknen günstig, ein schnelles aber ungünstig auf die Lebensdauer der Zellen einwirkt.

Die Hefemengen enthalten, wie ich früher schon genauer berichtet habe (l. c.), eine verschieden große Menge Glykogen. Bei dem Lagern verschwindet diese bei kalter Temperatur langsam, bei wärmerer schnell unter Bildung von Alkohol und Kohlensäure. So konnte in der anfangs sehr glykogenreichen Hefemenge von Rasse II in einigen Versuchen 3 Proz., in der glykogenärmeren Rasse XII nur 0,7 Vol.-Proz. Alkohol festgestellt werden. Nach 3 Tagen war bei 35° in der äußerst glykogenreichen obergärigen Bierhefe 5,75 Proz. Alkohol nachzuweisen. Mit dem Alter verschwindet dieser Alkoholgehalt allmählich wieder. Hefen, die 6—7 Monate alt waren, enthielten z. B. nur noch 0,4 Proz. Alkohol.

Es ist selbstverständlich, daß diese verhältnismäßig großen Alkoholmengen von Einfluß auf die Hefezellen, sowie auf die Zusammensetzung der Pilzflora sein müssen. Sicherlich ist wohl das schnelle Absterben der Zellen in der Tiefe der Hefemenge dadurch mit zu erklären.

Infolge der Herzucht in milchsaurer Würze ist die Hefemasse von Rasse II und XII anfangs schwach sauer. Sobald sich Oidium und Penicillium auf der Oberfläche eingefunden haben, entsteht in der oben befindlichen Hefemasse eine allmählich stärker werdende alkalische Reaktion. In der Tiefe dagegen wird die Hefe durch den Einfluß der massenhaft auftretenden Milchsäurebakterien stark sauer. Manchmal sinkt später die oben befindliche alkalische Schicht unter und die gesamte Masse reagiert viele Monate hindurch überall sauer. Da bis zu 4,5 Proz. (auf Milchsäure berechnet) Säure beobachtet wurde, ist es sicher, daß die Säure teilweise auch ohne Bakterieneinwirkung entsteht. Es kann schließlich auch die Pilzdecke oben erhalten bleiben und allmählich die alkalische Reaktion sich auf die untere Hefemasse ausdehnen. Während in letzterem Fall die Fäulnis allmählich fortschreitet, bleibt die stark sauer reagierende Hefe monatelang anscheinend völlig unverändert.

Die Hefemengen von Rasse XII und der obergärigen Bierhefe mancher Sude nehmen nach einiger Zeit auf der Oberfläche eine blaugraue Färbung an. Da dies von dem Luftzutritt abhängig ist, wird die Umfärbung durch Paraffinüberschichtung verhindert. Bei Anwesenheit von Essigbakterien, also bei saurer Reaktion, tritt ebenfalls die blaugraue Farbe nicht auf. Diese Hefe hält sich keineswegs schlechter als solche, die die Umfärbung nicht zeigt. Die unten in der Büchse oder im Glasgefäß befindliche Hefemenge behält sehr lange Zeit, oft jahrelang, ihre ursprüngliche weißliche Farbe, während die an der Ober-

fläche, je nach der sich dort ansiedelnden Pilzart, gelb, grün, rötlich oder schwärzlich gefärbt wird. Bestimmte Penicilliumarten färben z. B. die Hefe citronengelb, manche Fäulnisbakterien bedingen eine rötliche Färbung. Sehr alte, völlig flüssige Hefe sieht bei saurer Reaktion gelblich und bei alkalischer mehr oder weniger schwärzlich aus.

Betreffs des Geruches ließ sich folgendes feststellen: Bei Anwesenheit von Essigbakterien trat ein deutlicher Essiggeruch auf, so daß schon auf diese Weise diese für lagernde Hefe schädlichste Bakterienart nachzuweisen war. Wenn sich nur Milchsäurebakterien eingefunden hatten, so nahm die flüssiggewordene Masse nur einen Hefeextraktgeruch an. Der üble Geruch der faulenden Hefe geht meist von der Oberfläche aus und wird durch Oidium, Penicillium oder Fäulnisbakterien bedingt. Es entstehen hierbei reichliche Mengen von Ammoniak. Paraffinüberschichtung verhindert das Oberflächenwachstum, und dadurch oft also auch den Fäulnisgeruch. Wenn Oidium sich nur in geringen Mengen eingefunden hat, so entsteht ein zuerst angenehmer Käsegeruch, wie nach Camembert, später nach Harzkäse und Limburgerkäse. Aus dem Gesagten geht schon hervor, daß die untere Hefemasse meist nur schwach säuerlich riecht. Es kann jedoch unter bestimmten Bedingungen, besonders reichlich bei Paraffinüberschichtung, in großer Menge Schwefelwasserstoff entstehen, der der gesamten Hefemasse einen üblen Geruch verleiht. Sehr alte (1 Jahr bei Zimmertemperatur) Hefen rochen manchmal nur nach Hefeextrakt, ebenso bei saurer Reaktion fast gar nicht oder nach Limburgerkäse, während bei alkalischer Reaktion meist ein widerlicher Geruch vorherrschte.

Infolge der vorschriftsmäßigen Behandlung in der Hefezuchtanstalt und in der Versuchsbrauerei war die Infektion zunächst nur äußerst gering. Es ist natürlich in der Praxis unmöglich, absolut keimfreie Hefe in großen Massen herzustellen. Bei dem Abpressen und Einbringen in die Gefäße muß schon aus der Luft stets eine Infektion eintreten. Bei dem Lagern in der Kälte wird die Infektion erst nach längerer Zeit bemerkbar. So konnte z. B. bei Rasse II in einem Versuch bei 18—20° noch am 7. Tag, bei Rasse XII bei 11—16° sogar noch am 25. Tag und bei 19—21° am 9. Tag mit der angewandten Untersuchungsmethode keine Infektion nachgewiesen werden. Noch länger bleiben die Bierhefen ohne jede Infektion. Die obergärige Hefe wies in einer Probe bei 6—11° 56—72 Tage und bei 19—22° 23 Tage, die untergärige bei 6—11° 17 bis 52 Tage und bei 19—22° 5 Tage keine fremden Organismen auf. Offenbar ist dies der giftigen Einwirkung des Hopfengehaltes beider Hefen zuzuschreiben. Viel stärker war eine nach dem alten Verfahren in der Versuchshefefabrik hergestellte Hefe (Rasse XII) infiziert.

Da, wie gesagt, die Infektion zunächst meist nur so gering war, daß sie mit der angewandten Untersuchungsmethode (in hängenden Würzetröpfchen) oft nicht nachweisbar war, so ist es nicht weiter merkwürdig, daß dieselbe Hefe gleich nach der Herstellung, in verschiedene sterile Gefäße gebracht, keine genau gleiche Haltbarkeit zeigte.

In der Hefezuchtanstalt wird zunächst eine absolute Reinkultur der Hefen ausgesät. Eine Infektion kann in diesem Falle durch die Luft, durch die Gerätschaften und das Ernährungsmaterial eintreten. Wenn

die Hefe nicht direkt aus dem Reinzuchtapparat als absolute Reinkultur ausgesät, sondern von dem vorhergehenden Sude genommen wurde, so muß natürlich die Infektion eine größere sein und sich immer mehr anreichern. Je öfter die Hefe geführt wird, desto mehr muß sie infiziert sein.

Wenn geringe Infektionen nachgewiesen werden sollen, so muß zunächst eine Anreicherung derselben stattfinden. Essigbakterien und Kahmhefen lassen sich zweckmäßig durch Einimpfen einer kleinen Menge der zu untersuchenden Hefeprobe in steriles, möglichst weit vergorenes Bier nachweisen. Kahmhefe, Exiguushefe, sowie Oidium, Penicillium und manche Bakterienarten entwickeln sich zu deutlich sichtbaren Kolonieen auf der Oberfläche der festgepreßten Hefe. Ich habe schon früher über diese von mir öfter angewandte Methode in dieser Zeitschrift, Bd. X. 1903. No. 11, referiert. Die Anreicherung von Milchsäurebakterien gelingt dadurch, daß man die Hefezellen zunächst abtötet, indem man die in Wasser verteilte Probe kurze Zeit auf 58° erwärmt, von letzterer eine kleine Menge in sterile Maischefläschchen einbringt und 24 Stunden bei ca. 30° und 45° aufbewahrt. Bei stärkerer Infektion gelingt der Nachweis schon in hängenden Würzetröpfchen. Aus dem Aussehen der einzelnen Zellen und der Beschaffenheit der Verbände läßt sich mit Leichtigkeit die Anzahl der vorhandenen Bakterienarten feststellen.

Zur Vermeidung einer stärkeren Infektion bei der Herstellung der Hefe ist die Maische nach der Säuerung mindestens auf 68° C aufzuwärmen. Bei dieser Temperatur sind die Milchsäurebacillen, Essigbakterien und Kahmhefen fast augenblicklich abgetötet. Wichtig ist selbstverständlich auch, daß nur die reinste Einsaathefe zur Weiterzucht angewandt wird. In der Hefezuchtanstalt wird dieselbe Hefe (von einer Reinkultur) nicht öfter als 3mal geführt, es wird also hintereinander aus der absoluten Reinkultur die erste Zucht (Reinzucht), aus dieser die zweite Zucht und aus letzterer die dritte gezüchtet. Dies soll verhindern, daß die fremden Organismen sich zu stark anreichern.

Auf der Oberfläche der festgepreßten Hefemenge konnten an fremden Organismen Mucor, Penicillium, Oidium, Kahmhefe, Fruchtätherhefe, Exiguus-Hefe, Fäulnisbakterien und Heubacillen beobachtet werden. Im Inneren, d. h. in der Tiefe der Hefemasse, fanden sich Essigbakterien, Kulturmilchsäurebacillus (B. Delbrücki), mindestens drei Arten „wilder“ Milchsäurebacillen, Pediococcus, Fäulnisbakterien, Heubacillen, und an fremden Hefenarten Torula und S. Pastorianus. Die im Lagerbier oft vorkommende Milchsäurebakterienart (B. Lindneri) und Sarcina entwickelten sich üppig in der lagernden, untergärigen Hefe. Alle oben genannten Pilze fanden sich spontan ein. Künstlich eingeimpft kamen in der festgepreßten lebenden Hefemenge Essigbakterien (B. ascendens und aceti (Hansen?), Milchsäurebakterien (B. Buchneri und Haydncki), dagegen nicht Heubacillen und Fäulnisbakterien auf. Während eine künstliche Infektion mit Penicillium und Oidium bei den Brennereihefen ohne weiteres gelang, konnte ein Wachstum bei den Bierhefen (mit Ausnahme von Oidium auf untergäriger Hefe) nicht beobachtet werden. Wahrscheinlich wird letzteres durch den bei der Herzucht angewandten Hopfen verursacht.

Die sich am allerhäufigsten von allen fremden Pilzen

einfindenden Bakterien sind Milchsäurebakterien, die in 2–3 Arten fast ausnahmslos in sämtlichen Hefemengen von vornherein oder nach einiger Zeit zur Beobachtung kommen. In der Häufigkeit folgt dann Oidium lactis und Penicillium. Fast regelmäßig finden sich diese beiden Arten, oft schon am 4—7. Tage, auf den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Brennereihefen ein. Essigbakterien fanden sich niemals in Rasse II, nur sehr selten in Rasse XII, dagegen öfter in den Bierhefen. Dies kommt wohl daher, daß die Brennereihefen infolge ihrer sauren Reaktion, die von der bei der Herzüchtung angewandten milchsauren Maische herrührt, einen günstigen Nährboden für die genannten Schimmelpilze, dagegen einen ungünstigen für die Essigbakterien darstellen. Die Bierhefen sind ohne Säure, in ihnen kommen daher die Essigbakterien zur üppigen Entwickelung. Diese Bakterienarten sind teilweise auch wenig empfindlich gegen das Hopfengift.

Die Hefezellen werden durch Essigbakterien, manche Milchsäurebakterienarten und durch Penicillium abgetötet. Merkwürdigerweise ist dagegen, wie oben schon hervorgehoben wurde, eine Decke von Oidium auf der Oberfläche der festgepreßten Hefe zunächst von günstigem Einfluß.

Es wird durch Penicillium, Oidium und Fäulnisbacillen eine alkalische Reaktion hervorgerufen, die sich manchmal, wie oben gesagt, von der Oberfläche der Hefemasse auch auf die Tiefe erstreckt. Von diesen drei Pilzarten wird neben reichlichen Mengen von Ammoniak oft ein sehr unangenehmer Fäulnisgeruch gebildet. Die Ursache der manchmal beobachteten reichlichen Schwefelwasserstoffbildung ist noch nicht festzustellen gewesen. Möglicherweise sind hierbei besondere Milchsäurebacillenarten beteiligt.

Bemerkenswert ist, wie an dieser Stelle nochmals erwähnt sein mag, daß durch Penicillium glaucum die Zellwände der Hefen aufgelöst werden.

In mehrere Monate alten, abgestorbenen Hefemengen mit saurer Reaktion waren etwa 3 Arten Milchsäurebakterien noch im lebenden Zustande. Heubacillenarten und Fäulnisbacillenarten fanden sich dagegen in ebenso alten Hefen mit alkalischer Reaktion. An fremden Hefearten lebten Kahmhefe und Torula noch in der abgestorbenen Hefemasse. Sehr interessant ist ferner, daß über $^1/_3$ der untersuchten abgestorbenen Hefemengen völlig frei von lebenden Organismen waren. Diese Hefemassen befanden sich in mit Deckel verschlossenen Blechbüchsen (Versandbüchsen zu 1 kg) und waren offenbar durch ihre sehr stark saure Reaktion für jedes Pilzwachstum ungeeignet. Es wurde beobachtet, daß 1—2 Monate alte verflüssigte Hefemassen viel größere Mengen lebender Bacillen enthielten als ältere. Mit dem Verschwinden der Pilzvegetation hängt auch das allmähliche Verschwinden des Fäulnisgeruches zusammen.

Die an organischen Stickstoffverbindungen äußerst reiche Hefemasse läßt regelmäßig große Mengen von Milchsäurebakterien, die bekanntlich eiweißreiche Nahrung bevorzugen, aufkommen. Außer Milchsäure entsteht in den alten Hefemengen auch Essigsäure. Diese Säuren dürften wohl zum größten Teil aus den Eiweißstoffen und in geringer Menge auch aus dem Glykogen der frühzeitig abgestorbenen Zellen entstehen. Durch die Säuren, durch den aus dem Glykogen der

lebenden Zellen stammenden Alkohol, den Mangel an Sauerstoff und schließlich durch die in großer Menge vorhandenen wirksamen Enzyme und die durch diese entstandenen Stoffe wird die Entwickelung anderer Bacillenarten verhindert. Wie auch aus dem oft auffallend an bestimmte Käsearten erinnernden Geruch der Hefemassen zu erkennen ist, hat die Pilzflora und die Art der Eiweißzersetzung gewisse Aehnlichkeit mit der im Käse.

Zur Prüfung, ob eine Hefe „gut" ist und eine genügende Haltbarkeit besitzt, wird von seiten der Praktiker das Aussehen der Oberfläche der aufbewahrten Hefe beachtet. Wie die Versuche ergaben, ist ein „verschimmeltes" Aussehen der Oberfläche durchaus nicht immer ein Zeichen für verdorbene Hefe, da nach Entfernung einer dünnen Schicht von der Oberfläche dieselbe völlig brauchbar sein kann. Eine blaugraue Färbung der Oberfläche ist ganz unbedenklich und nur als Schönheitsfehler anzusehen. Ferner pflegt der Praktiker auf den Grad der Festigkeit der Hefe großen Wert zu legen. Er prüft durch Drücken mit dem Finger, durch kräftiges Zerreiben in der inneren Handfläche oder durch möglichst kräftiges Hinwerfen oder durch Aufschlagen einer in einem Tuch eingewickelten Hefeprobe, ob die Hefe leicht „schmierig" wird. Nach seiner Meinung ist nur die bei dieser Behandlung trocken bleibende Hefe haltbar. Die Versuche mit nachträglichem Wasserzusatz ergaben nun, daß ein mehr oder weniger großer Wassergehalt innerhalb gewisser Grenzen die Haltbarkeit nicht beeinflußt. Wenn eine Hefe, die zuerst trocken war, nach einiger Zeit weich wird, so beweist dies weiter nichts, als daß die Zellen teilweise abgestorben sind, was an sich bei der großen Vermehrungsgeschwindigkeit der überlebenden Zellen bei dem Gebrauch gar nichts zu bedeuten hat. Es erscheint danach schließlich nur der ebenfalls von den Praktikern zur Beurteilung der Hefe beachtete Geruch von wirklicher Wichtigkeit zu sein. Eine Hefe, die sauer riecht, also Essigbakterien enthält, ist in der Tat, wie auch aus den oben mitgeteilten Ergebnissen zu ersehen ist, nicht haltbar. Die sicherste Prüfung der Hefe geschieht natürlich auf mikroskopischem Wege. Hier lassen sich die Anfänge der Essigbakterienentwickelung schon vor dem Auftreten des sauren Geruches und ebenso die sonst nicht nachzuweisenden schädlichen Milchsäurebakterien, über die in dem nächsten Referat zu berichten sein wird, in kurzer Zeit erkennen.

Je nach dem Zweck, zu dem die Hefe dienen soll, ist natürlich die Hefe zu beurteilen. Zur Weiterzucht in der Hefefabrik (selbstverständlich auch für die Brauereien) ist nur die reinste Hefe zu verwenden. Die Bäckerei verlangt Hefe, die von fremden Geruch und Geschmack verursachenden Beimengungen, also z. B. von Essigbakterien, völlig frei ist. In Brennereien kann man aber, wie viele Versuche ergaben, ganz gut ziemlich stark infizierte Hefe anwenden. Penicillium, Oidium, Kahmhefe und Exiguus-Hefe können hier niemals schädlich werden. Wenn die Maische genügend angesäuert wurde, kommen auch die säurebildenden Bakterienarten nicht auf. Natürlich ist Bedingung, daß keine besonders schädlichen Arten in der Hefemenge anwesend waren.

Wenn schließlich die Ergebnisse, die in den Versuchen mit absoluten Reinkulturen erhalten wurden, mit den Beobachtungen an Fabrikhefen verglichen werden, so läßt sich folgendes

feststellen: Die Bedingungen sind, was zunächst hier hervorgehoben sein mag, insofern ganz verschieden, als die Hefezellen in den absoluten Reinkulturen in viel feuchterem Zustande und in viel geringeren Mengen zusammengelagert sich befanden, als in den abgepreßten Hefemassen aus der Fabrik. Die größere Feuchtigkeitsmenge verursacht einen lebhafteren Stoffwechsel und dadurch bei fehlender Nahrung eine kürzere Lebensdauer. Die Hefen in den absoluten Reinkulturen starben, obwohl sie vor Infektion geschützt waren, bei sämtlichen Rassen in der Hauptmenge früher ab. Einzelne Zellen bleiben aber, da auch eine geringe Vermehrung unter diesen Bedingungen stattfinden kann, noch lange Zeit am Leben, während in den Fabrikhefen wohl infolge der Infektion bald das Absterben sämtlicher Zellen eintritt. Die absolute Reinkultur von Rasse II stirbt schneller ab als die von Rasse XII. Im abgepreßten Zustande ist es bei denselben Hefen in der Tiefe der Hefemasse genau so, an der Oberfläche aber umgekehrt.

Gleiche oder ähnliche Ergebnisse sind:

Die Abhängigkeit der Lebensdauer von der Temperatur, der Lage (Oberfläche lebt länger als die Tiefe), dem Luftabschluß, der Menge der Hefe, dem Zellindividuum, der Art der Infektion (ausgenommen Oidium, das nicht die trockengepreßte Hefe abtötet).

Das Vorhandensein von kranken, abnormen und fettreichen Zellen.

Das Fehlen der Sporenbildung bei den Bierhefen.

Das Aufhellen des Plasmas als Beginn der Peptasewirkung.

Ueppige Entwickelung von Milchsäurebakterien, Essigbakterien, Oidium und Penicillium (die zwei letzteren in abgepreßten Bierhefen viel weniger).

Alkalische Reaktion, Ammoniakbildung, Käsegeruch, später Fäulnisgeruch und dunkle Färbung durch Oidium und Penicillium.

Auflösung der Zellwände durch Penicillium.

Abweichende Ergebnisse dagegen sind:

Ein Wasserzusatz wirkt günstiger bei abgepreßten Hefen.

Die Reaktion in Reinkulturen wird allmählich alkalisch, in Fabrikhefen durch die regelmäßige Milchsäurebakterieninfektion sauer.

Auskristallisieren der durch die Peptasewirkung entstandenen Stoffe in Reinkulturen — bei denselben Wärmegraden (tiefer als 25°) in Fabrikhefen nicht (infolge Umsetzungen durch die Infektion) oder erst sehr viel später.

Fäulnisbakterien und Heubacillen wachsen in Reinkulturen üppig und erweisen sich als schädlich — in frischen Fabrikhefen (offenbar infolge der Anwesenheit der Milchsäurebakterien) kommen sie trotz der reichlichen Einimpfung nicht auf.

In dem Schlußergebnis ist nach allen diesen Angaben besonders hervorgehoben, daß das Leben der (nicht getrockneten) Hefezelle bei etwas wärmerer Temperatur verhältnismäßig nur kurz ist. Durch das unnatürliche Zusammenlagern von unzähligen Zellen wird das Leben der einzelnen Zelle infolge der Anhäufung der Stoffwechselprodukte und der Verhinderung der Atmung in hohem Grade verkürzt.

Vielfach töten außerdem auch fremde Organismen die Zellen ab. Um eine haltbare Hefe zu gewinnen, ist es also nötig, die geeignetste Rasse auszuwählen und diese in möglichst kräftigem und von fremden Organismen freien Zustande zu züchten, da eine solche unter den ungünstigen Bedingungen des Lagerns am längsten leben wird. Henneberg (Berlin).

Referate.

Stoklasa, Julius, Ueber das Enzym Laktolase, welches die Milchsäurebildung in der Pflanzenzelle verursacht. (Berichte der deutschen Bot. Ges. 1904.)

Es ist als gewiß anzusehen, daß der Prozeß der anaëroben Atmung der Pflanzenzelle eine alkoholische Gärung ist. Nachdem wir aber immer bei der anaëroben Atmung Milchsäure nachgewiesen haben, so läßt sich schließen, daß der Prozeß in zwei Formen verläuft. Zunächst bildet sich aus den Hexosen Milchsäure und diese wird in Alkohol und Kohlendioxyd gespalten.

Beim Studium der chemischen Bilanz der anaëroben Atmung, welche durch die in der Pflanzenzelle sich befindenden Enzyme hervorgerufen wird, wurde der Beweis erbracht, daß ein größeres Quantum der zersetzten Glukose, Fruktose, Galaktose oder Saccharose, Maltose und Laktose gefunden wurde, als die Bildung des Alkohols und des Kohlendioxyds nach der Formel:

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,C_2H_5.OH + 2\,CO_2$$
$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 4\,C_2H_5.OH + 4\,CO_2$$

erfordert.

Nach einer, länger als 12 Stunden andauernden anaëroben Atmung war es immer möglich, in der Lösung schwach saure Reaktion nachzuweisen. Die steigende Acidität hat im Verlaufe der Zeit die vollständige Vernichtung der Alkoholase zur Folge. Nach dem Versuche wurde in einigen Fällen festgestellt, daß die Acidität der gefundenen Menge an Milchsäure entspricht.

Diese Erscheinung trat nicht nur bei den höher organisierten Pflanzen zutage, sondern die Entstehung der Milchsäure wurde auch beim Studium der Atmung der Spaltpilze in der Lösung der Hexosen und Disacchariden konstatiert. Die Spaltpilze zeichnen sich, wie bekannt, durch energische Respirationstätigkeit aus.

Die Milchsäure neben Alkohol und Kohlendioxyd wurde bei der anaëroben Atmung der Zuckerrübe, der Gurken (*Cucumis sativus*), der Kartoffeln (*Solanum tuberosum*) und der Erbsensamen (*Pisum sativum*) nachgewiesen. Aeußerst interessant erwies sich die Verfolgung des Prozesses bei den Gurken- und Erbsensamen, wo überall die Milchsäure quantitativ nach der Methode von Partheil bestimmt wurde. Wir haben konstatiert, daß 1 kg der Gurkenmasse auf Trockensubstanz berechnet, binnen 100 Stunden anaërober Atmung, nach mehreren Versuchen, bei einer Temperatur von 20° C ergab:

$$C_3H_6O_3 = 8{,}24\ g$$
$$C_2H_5OH = 14{,}20\ „$$
$$CO_2 = 11{,}26\ „$$

Es verdient ganz besonders erwähnt zu werden, daß die Versuche nur mit sterilisierten Gurken angestellt worden sind, und daß die Lösung in dem Versuchscylinder (in welchem also die anaërobe Atmung vor sich ging) immer rein und niemals getrübt war.

Wir haben auch einige Versuche ausgeführt, um zu beweisen, daß die Bildung von Milchsäure, Alkohol und Kohlendioxyd tatsächlich bei absoluter Abwesenheit von Mikroben unter allen Umständen vor sich geht. Wir tauchten zu diesem Zwecke die Gurken, Zuckerrüben oder Kartoffeln direkt in eine verdünnte Sublimatlösung, und zwar in eine 0,05-proz. Lösung, und es zeigte sich, trotz dieses starken Antiseptikums, nach einer Woche ebenfalls, allerdings in kleineren Mengen, Milchsäure, Alkohol und Kohlendioxyd.

Die Analyse umfaßt die $C_3H_6O_3$, C_2H_5OH und CO_2 = Mengen nicht nur als Angabe derselben in der Lösung, sondern auch als den Inhalt der in der Gurke sich befindenden Verbindungen. Dabei beobachteten wir die interessante Erscheinung, daß die Gurken bei anaërober Atmung eine verhältnismäßig große Menge von Milchsäure bilden, während die verschiedenen Samen ein viel geringeres Quantum ergeben. Die Gurken enthielten bei 95 Proz. Wasser 0,3—0,5 Proz. Glukose.

Weitere Beobachtungen beziehen sich auf die Wurzel der Zuckerrübe.

1 kg Zuckerrübenwurzel, berechnet auf Trockensubstanz, entwickelt innerhalb 100 Stunden insgesamt bei anaërober Atmung, bei einer Temperatur von 20° C:

$$C_3H_6O_3 = 3{,}23$$
$$C_2H_5OH = 10{,}32$$
$$CO_2 = 9{,}56$$

welche Quantitäten in der Lösung und in der Wurzel zusammen gefunden wurden.

Nachdem wir mit voller Sicherheit bei Abwesenheit sowohl der aëroben als auch der anaëroben Mikroben konstatiert haben, daß sich Milchsäure bildet und sie sich immer als wesentlicher Bestandteil des anaëroben Stoffwechsels vorfindet, sind wir zur Isolierung der Enzyme geschritten, welche die Milchsäurebildung im Pflanzenorganismus verursachen.

Die isolierten Enzyme riefen in zahlreichen Fällen augenblickliche alkoholische Gärung hervor, welche ihren Kulminationspunkt in 6 bis 8 Stunden erreicht hatte. Das Studium der Gärung wurde in speziell dazu eingerichteten Apparaten verfolgt.

Die Gärung der Enzyme zeigt bei vollständigem Luftzutritt, sobald dieselbe länger als 24 Stunden dauert, eine Entwickelung von Wasserstoff, und zwar sind wir im stande, in dem entweichenden Gase neben Kohlendioxyd auch Wasserstoff zu konstatieren.

Der Alkohol wird bei Einwirkung neuer Enzyme, betreffs welcher noch an anderem Orte die Rede sein wird, oxydiert, wobei er in Essigsäure übergeht.

Neben Essigsäure entsteht ferner auch Ameisensäure. Aus der Ameisensäure bildet sich bei Abspaltung von CO_2 schließlich Wasserstoff.

Der Wasserstoff, welcher bei der Degradation der Kohlenhydrate, und zwar durch die Wirkung der Enzyme als Endprodukt entsteht, geht in statu nascendi durch Oxydation zum großen Teile in Wasser über. Es ist ganz gut wahrscheinlich, daß dem Wasserstoff, der in statu nascendi bei der Spaltung der Kohlenhydrate entsteht, in der chlorophyllhaltigen Zelle eine bedeutungsvolle Funktion bei der Assimilation des Kohlen-

dioxydes zugewiesen ist; es ist die Möglichkeit der Bildung von CH_2O durch Reduktion des CO_2 nach der Formel:

$$CO_2 + 4\ H = CH_2O + H_2O$$

nicht ausgeschlossen. Autoreferat.

Nilson, A., The cause of the germination of Barley. Zur Kritik Windischs in der Wochenschrift für Brauerei. September 1904. (The Brewer and Maltster. Bd. XXIII. 1905. No. 12.)

Verf. wendet sich gegen die abfällige Kritik Windischs über seine Theorie betreffs des Einflusses bakterieller Entwickelung auf das Wachstum der Gerste und behauptet wiederholt, daß durch die Wirkung der Milchsäure erzeugenden Bakterien auf den löslichen Zucker des Gerstenkorns Milchsäure gebildet werde, die in statu nascendi das unlösliche Eiweißmolekül in lösliches Eiweiß und Enzyme spalte. Letztere verwandeln sodann die unlöslichen Kohlehydrate in lösliche und bilden aus dem Eiweiß höheren Grades Albumine, Albumosen, Peptone und Amide. Diese Annahme erscheint dem Verf. glaubhafter als diejenige Windischs, wonach durch Pulsieren des Protoplasmas die Säure gebildet werde.

Kausch (Charlottenburg).

Bokorny, Th., Noch Einiges über das Invertin der Hefe, quantitative Versuche. (Chem.-Ztg. 1902. August.)

Nachdem schon in einer früheren Nummer dieser Zeitschrift (Bd. XXV. 1901. p. 502) über das Invertin Einiges berichtet worden ist, teilt Verf. nun quantitative Versuche über die Schädigung des Invertins durch äußere Einflüsse mit.

Zunächst ergab eine Vorprüfung, daß die Menge des Zuckers bei den Invertierungsversuchen, ob 5 oder 10 oder 20 Proz. Rohrzucker, auf das Resultat keinen erheblichen Einfluß hat.

Auch ist es ziemlich gleichgültig, ob man lebensfrische oder vorsichtig bei gewöhnlicher Temperatur getrocknete Hefe (von dieser entsprechend weniger) zum Versuch anwendet. Die trockene Hefe gibt eher noch stärkere Inversion.

Das Trocknen schadet dem Invertin offenbar nicht, wenn es nicht bei höherer Temperatur geschieht.

Auch hat es auf den Ausfall des Versuches keinen erheblichen Einfluß, ob man die frische Hefe mit oder ohne Toluolzusatz auf den Zucker wirken läßt.

Die weiteren Versuche wurden so angestellt, daß eine etwa 0,5 g Trockensubstanz entsprechende Menge Hefe, nachdem sie zuvor eine bestimmte Zeit in Alkohol von bestimmter Konzentration gelegen war, auf 2,5 g Rohrzucker (in 25 g Wasser gelöst) 15 Minuten lang einwirken gelassen wurde.

Innerhalb dieser kurzen Zeit schon fand eine beträchtliche, oft über die Hälfte betragende Inversion statt.

Vergärung des Zuckers war innerhalb so kurzer Zeit nur in ganz geringem Grade möglich.

Die Inversion verläuft unvergleichlich rascher als die Gärung. Das Invertin übertrifft das Gärungsferment bei weitem an Raschheit der Wirkung.

Ich habe noch kein Enzym gesehen, das so rasch und vollständig

seine Wirkung tut, wie das Invertin der Hefe. Höchstens das Labenzym könnte allenfalls damit verglichen werden.

Bei einem Vorversuch mit nicht in Alkohol gelegener Hefe wurden von lufttrockener Hefe (1,33 g auf 5 g Rohrzucker) binnen 15 Minuten 82,2 Proz. des dargebotenen Rohrzuckers, nämlich 4,11 g invertiert.

Hefe, welche lebensfrisch in absoluten Alkohol verbracht und dort 3 Tage belassen wurde, bewirkte nachher Inversion im Betrag von 52,82 Proz. binnen 15 Minuten (eine 0,5 g Trockensubstanz entsprechende Hefemenge wurde auf 2,5 g Rohrzucker wirken gelassen).

Der absolute Alkohol hatte also das Enzym etwas geschwächt, aber die Inversionswirkung war doch noch erstaunlich stark.

Wurde aber die frische Hefe 3 Tage lang in 45° warmen absoluten Alkohol gebracht, so ging das Inversionsvermögen fast völlig verloren.

5-proz. Formaldehyd vermochte bei 3-tägiger Einwirkung die Inversionskraft der Hefe nicht merklich herabzudrücken.

Wurde er aber 45° warm 3 Tage wirken gelassen, so ging das Inversionsvermögen der Hefe völlig verloren.

In beiden Fällen ist es das bei höherer Temperatur stärker wirkende Gift, welches die tödliche Wirkung hervorruft. Denn die Temperatur 45° ist sonst für das Invertin sehr günstig.

Etwas unter 50° liegt das Wirkungsoptimum für das Enzym. erst über 55° hinaus wird dasselbe langsam zerstört.

Gifte wirken immer bei höherer Temperatur stärker.

0,25-proz. Oxalsäure vermindert bei 2-tägiger Einwirkung auf frische Hefe das Inversionsvermögen derselben nicht (es wurde nachher ein Inversionsbetrag von 86,26 Proz. bei gleicher Versuchsanstellung wie oben konstatiert).

0,5-proz. Oxalsäure sogar war unschädlich.

Auch andere Säuren greifen das Invertin wenig an (z. B. 2-proz. Essigsäure oder Milchsäure binnen 2 Tagen).

Sonst sind Säurekonzentrationen von 0,5 bis 1 Proz. für Enzyme häufig schädlich.

0,5 Proz. Schwefelsäure tötet das Gärungsferment binnen 24 Stunden; 0,5 Proz. Oxalsäure schwächt es.

1 Proz. Salzsäure oder 1 Proz. Oxalsäure vernichtet die Glukase oder Maltase binnen 24 Stunden.

Selbst gegen Flußsäure, dieses starke Gift, ist das Invertin ziemlich unempfindlich.

0,25- oder sogar 0,5-proz. Flußsäure wirkt binnen 2 Tagen nicht erheblich nachteilig auf das Invertin. Autoreferat.

Molisch, Hans, Ueber das Leuchten von Hühnereiern und Kartoffeln. (Anzeiger der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, mathem.-naturw. Klasse. 1905. No. 3. p. 44—45.)

Ueber die Ursache des Leuchtens dieser Objekte war man bisher ganz im unklaren. Dr. Gerloff (Nauheim) berichtete dem Verf. über das Vorkommen von leuchtenden Soleiern, d. h. gekochter Hühnereier, die behufs längerer Haltbarkeit (3 Tage) in Salzwasser aufbewahrt werden. Verf. wies nach, daß die Eier durch das Bacterium phosphoerum (Cohn) Molisch infiziert werden, welches ja regelmäßig auf Schlachtviehfleisch vorkommt. Eine Berührung der Eier mit solchem

Fleisch erfolgt oft sowohl in der Küche als auch auf dem Markte. Verf. erklärte dies durch Experimente: Werden Eier auf dem Markte gekauft, 8 Minuten gekocht, dann gekühlt, ihre Schale zerbrochen, aber nicht abgelöst, und über ein Stück käuflichem Rindfleisch gerollt, so werden sie von dem Bakterium infiziert. Eingetaucht in eine 3-proz. Kochsalzlösung, so daß das Ei nur wenig über das Niveau derselben hervorragt, leuchtet es nach 1—3 Tagen an den angebrochenen Stellen und es leuchtet auch die Flüssigkeit in der Umgebung des Eies selbst; dies tut namentlich die an der Innenseite der Schale befindliche Haut und das Eiweiß. Nach 4 Tagen nimmt die Leuchtkraft allmählich ab.

Auch gekochte Kartoffeln sollen leuchten. Verf. zeigte, daß dies wahr sei. Auf ähnliche Weise wie oben erhielt er „leuchtende Kartoffeln“, wenn er gekochte mit käuflichem Rindfleisch in Berührung brachte und sie hierauf in eine 3-proz. NaCl-Lösung einlegte.

Leuchtende Eier und Kartoffeln kann man sich also jederzeit experimentell verschaffen. Matouschek (Reichenberg).

Rossi, G., Grazia, S., de Capraris, T., Contributo allo studio della decomposizione dei vegetali. (Sep.-Abdr. aus Archivio di Farmacologia Sperimentale. Vol. III. 1904. Fasc. 10. 30 pp.)

Die Arbeit zerfällt in drei Abschnitte. In dem ersten werden Versuchsergebnisse betreffs der Verwesung lebender Pflanzenbruchstücke durch die Tätigkeit bestimmter Mikroorganismen mitgeteilt. Zur sterilen Gewinnung wurden die Pflanzenteile oder gar ganze Pflänzchen mit Sublimat und sterilem Wasser abgespült. 21 Bakterienarten, eine Torula (Rosahefe) und Saccharomyces cerevisiae I kamen in Anwendung. Es wurde parallel mit rohen und dampfsterilisierten Stücken von Kartoffelknollen, Birnen- und Kürbisfrüchten, Luzernenblättern, Rüben-, Mohrrüben- und Runkelrübenwurzeln gearbeitet.

Nur die verschiedenen Formen und Rassen des Bac. mesentericus und der von Rossi früher (Annali d. Scuola d. Agricult. in Portici, 1903) entdeckte Bac. Comesii vermögen die genannten Pflanzenteile anzugreifen.

Im zweiten Abschnitte haben die Verff. die Röste abgefallener Tannennadeln mit Hilfe der genannten Organismen, aber mit negativem Ergebnis, untersucht.

Es wurde dann die Wirkung von Bac. similcoli I, vulgatus, Comesii und denitrificans auf Cellulosepräparate, und zwar auf Filterpapier, Watte, Leinwand und Kattunstoff geprüft. Die drei letztgenannten Materialien erwiesen sich als nicht angreifbar, wohl aber Filterpapier durch B. Comesii, in Abwesenheit von Nitraten auch durch Bac. vulgatus.

Bei dem reichen, ausführlich mitgeteilten Beobachtungsmaterial fühlt sich Rossi zur Bestätigung seiner früheren Ansichten (l. c.) berechtigt, daß es keine Beziehung zwischen reicher Entwickelung eines Organismus und Wirkung auf verwesende Pflanzensubstanz gibt. So ließ Bact. gliscrogenum Malerba und Sanna-Salaris sämtliche Kulturflüssigkeiten verschleimen, ohne die darin liegenden Pflanzenteile anzugreifen. Verschiedene Bedingungen können die Bakterien dazu veranlassen, sich in die absterbenden Pflanzenteile einzufressen. So greifen B. mesentericus I und II Luzerneblätter in Nährbouillon, kaum aber in Wasser an. Die Rasse, die Art der Sterilisation, vor allem die spezifi-

schen Befähigungen der verschiedenen Bakterien spielen ebenfalls eine große Rolle. So stellten die tätigen Bakterien ausschließlich aërobe und sporenbildende Formen dar und es wurde Bac. Comesii als eine omnivore Art erkannt. Pantanelli (Rom).

v. Höhnel, F., Mykologische Fragmente. (Annales mycologici. Vol. II. 1904. p. 38—61.)

Die Abhandlung enthält unter anderem Mitteilungen über einige interessante parasitische Pilze:

Tilletia (?) Chrysosplenium n. sp. infiziert die Archegonien einer Bryum-Art (Algerien), welche dadurch blasig angeschwollen erscheinen, und zwar wird jedesmal nur ein Archegonium des (zweihäusigen) Blütenstandes befallen, während die übrigen verkümmern. Das bei der Reife freiwerdende Sporenpulver ist goldgelb.

Spicaria penicillata n. sp., ein Parasit auf einem Schleimpilz nämlich Arcyria punicea (Wienerwald, Niederösterreich), welcher auf diese Wirtpflanze beschränkt zu sein scheint; wenigstens kam er auf ihr allein vor, obwohl andere Myxomyceten in unmittelbarer Nähe standen.

Ramularia Gei (Eliass) v. Höhn. auf Geum urbanum (Schweden, Oesterreich). Neger (Eisenach).

Rehm, H., Beiträge zur Askomycetenflora der Voralpen und Alpen. (Oesterr. botan. Zeitschr. Jahrg. LIV. 1904. No. 3. p. 81—88.)

Mit lateinischen Diagnosen werden genau beschrieben:

1) Amphisphaeria Viae malae Rehm (ad ramulos siccos fere decorticatos Ligustri vulgaris, Splügen Helvetiae). 2) Anthostomella melanoderma Rehm (ad caules putrescentes Umbelliferae (?) prope Andechs Bavariae sup.). 3) Diaporthe (Chorastate) ribesia Rehm (ad ramulos sicc. Ribis saxatilis in valle Oetz Tiroliae). 4) Didymella praestabilis Rehm (ad culmos et folia graminum juxta moles glaciales montis Ortler et Taschach Tiroliae). 5) Leptosphaeria Arnoldi Rehm (in thallo Peltigerae malaccae fuscato prope Paneveggio Tiroliae). 6) Leptosphaeria corrugans Rehm (ad folia viva Cytisi alpini prope Veldes Carnioliae). 7) Leptosphaeria Rivana (De Not.) Sacc. forma Solorinae Rehm (in thallo Solorinae croceae prope Kühtai apud Oetz). 8) Linospora arctica Karst. var. helvetica Rehm (ad foliolum Salicis [reticulatae?] ad moles glaciales Silvrettae in Helvetia). 9) Linospora graminea Rehm (ad culmos exsiccatos et dealbatos gramineos juxta moles glaciei Sulden montis Ortler). 10) Lizonia Johansonii Rehm (ad folia sicca Dryadis octopetalae in monte Herzogenstand alpium Barvariae). 11) Melanospora Rubi Rehm (ad folium putridum Rubi fruticosi prope Monachium Bavariae). 12) Nectria (Lasionectria) Mercurialis Boud. var. Urticae Rehm (ad caules exsicc. Urticae dioiciae prope Monachium). 13) Nectria (Lasionectria) pilosella Rehm (ad culmum graminis prope Andechs Bavariae). 14) Ophiobolus juncicolus Rehm (ad culmum Junci putridum prope Olching Bavariae), und 15) Peltosphaeria Orni Rehm (ad ramum corticatum Fraxini Orni prope Görz).

Bezüglich der Synonymik und Nomenklatur ist folgendes zu erwähnen:

1) Amphisphaeria salicicola Allesch. 1897 = Didymosphaeria decolorans Rehm 1898. 2) Laestadia Gentianae Briard et Har. 1890 = Laestadia Gentianae Rehm, 1894 = L. Rehmii Sacc. et Syd.

Außerdem werden noch eine Anzahl von Seltenheiten angeführt.
Matouschek (Reichenberg).

Vuillemin, Paul, Le Spinalia radians g. et sp. nov. et la série des Dispirées. (Bulletin de la société mycologique de France. T. XX. 1904. p. 51—54. Mit 1 Tafel.)

Zu Epinal fand Verf. im Baumflusse eines frisch gefällten Birkenbaumes einen neuen Phykomyceten, Spinalia radians. Die neue Gattung wird genau beschrieben; sie ist mit den Gattungen Dispira, Dimargaris und Syncevalastrum verwandt. In Gesellschaft fand sich Mucor fragilis und Piptocepalis Le Monnieriana.

Matouschek (Reichenberg).

Bertel, Rudolf, Aposphaeria violacea n. sp., ein neuer Glashauspilz. (Oesterr. botan. Zeitschr. Jahrg. XLIV. 1904. No. 6. p. 205—209; No. 7. p. 233—237, und No. 8. p. 288—289. Mit 1 Taf.)

Diagnose: In und auf den mit farblosen Membranen ausgestatteten Hyphen wird ein braunroter Farbstoff gebildet. Mycel dem Substrate dicht angeschmiegt. Pykniden bald zerstreut, bald gehäuft, stets oberflächlich von kugliger bis flaschenförmiger Gestalt, stets mit ostiolum, gelbbraun bis schwarz, in der Jugend lederartig, später kohlig, bis 260 μ im Durchmesser. Asci fehlend, Konidien länglich, an beiden Enden abgerundet, einzellig, 6,8 μ lang und 3,2 μ breit, hyalin. Auf dem Fensterkitt und dem Oelanstriche der Gewächshäuser (Warmhäuser) des pflanzenphysiologischen und botanischen Instituts der k. k. deutschen Universität in Prag.

Auf diesem Substrate bildet der Pilz mehrere Centimeter breite und lange, rotviolette Flecken.

Die Kultur des Pilzes zeigte: 1) Für die Farbstoffbildung ist Licht unbedingt nötig. 2) Das Wachstumsoptimum liegt zwischen 25—30° C. 3) Der Pilz ist aërob. 4) Der Farbstoff ist im Zellsaft gelöst, aber auch in Form von Körnchen innerhalb und außerhalb der Hyphen anzutreffen. Von auffallenden Reaktionen auf den Farbstoff muß besonders die mit Kalilauge und anderen Alkalien eintretende intensive Blauviolettfärbung des im mikroskopischen Bilde braunrot erscheinenden Farbstoffes hervorgehoben werden. Viele Lösungen (z. B. alkoholische und ätherische) des Farbstoffes zeigen eine auffallende Fluoreszenz; eine mittelmäßig konzentrierte Lösung ist im durchfallenden Lichte karminrot, im auffallenden Licht orangegelb (Aehnlichkeit mit Phykoerythrin). Der Farbstoff gehört zu den Karotinen, ist mit keinem bis jetzt bekannten Pflanzenfarbstoff identisch, wohl aber ist er nahe mit dem Mykoporphyrin verwandt. Asci wurden weder in der Natur noch in der Kultur beobachtet. Der Pilz ist ein Pyrenomycet, in die Ordnung der Sphäropsideen und zur Familie der Spharoideae zu zählen.

Matouschek (Reichenberg).

Tranzschel, Ueber einige auf Grund irrtümlicher Bestimmung der Nährpflanzen aufgestellte Puccinia-Arten. (Annales mycologici. Vol. II. 1904. p. 157—161.)

Puccinia Veronicae-Anagallidis Oud. ist nichts anderes als P. Epilobii DC., die der ersteren Art zu Grunde liegende Wirtpflanze — eine Epilobium-Art — war für Veronica Anagallis gehalten worden.

Puccinia Castagnei Schroet., welche angeblich auf Thalictrum angustifolium in Südfrankreich vorkommen soll, ist identisch mit P. bullata (Pers.) Wint., die betreffende Wirtspflanze erwies sich als Silaus pratensis.

Puccinia Plantaginis (angeblich auf Plantago lanceo-

lata) muß P. scorzonericola Tranzsch. heißen, da die Wirtpflanze keine Plantago, sondern Scorzonera humilis ist.

Neger (Eisenach).

Nestler, Anton, Zur Kenntnis der Symbiose eines Pilzes mit dem Taumellolch. (Sitzungsberichte der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Bd. CXIII Wien. Abt. I der mathem.-naturw. Klasse. 1904. p. 529—546. Mit 1 Tafel.)

Es ist sehr zweifelhaft, ob es zwei Formen von Lolium temulentum gibt: eine pilzhaltige und eine pilzfreie, da Verf. in den untersuchten Pflanzen und Früchten (ja selbst in den obersten, also kleinsten Früchten) stets den Pilz vorfand. Ursprünglich war der Taumellolch wohl pilzfrei, aber schon damals ist er oft durch einen parasitischen Pilz häufig infiziert worden. Dadurch gingen wohl viele Früchte zu Grunde, aber andere zeigten doch eine solche Widerstandskraft, daß sie trotz des Pilzes keimten. Die Aleuronschicht setzte einem weiteren Eindringen des Pilzes einen Widerstand entgegen. Solche widerstandsfähige Individuen behaupteten sich gegenüber schwächeren Formen. Zwischen dem Pilz und dem Taumellolch existiert eine echte Symbiose. Verf. und Freeman haben nachgewiesen, daß beim Keimen der Frucht die Pilzhyphen völlig aufgelöst werden und ihre Eiweißstoffe der Pflanze möglicherweise zu gute kommen. Die in der Frucht von Lol. temulentum in konstanter Lage — zwischen Aleuron und hyaliner Schicht — befindlichen Hyphen zeigen auf den Nährböden Bierwürzegelatine, Loliumextrakt, Agar-Agar etc., kein Wachstumsvermögen. Nur einmal konnte Verf. ein kurz andauerndes Längenwachstum einer Hyphe auf Bierwürzegelatine plus Loliumextrakt nachweisen, wobei auch bis 30 μ lange Zweige entwickelt wurden. Aus unbekannten Gründen hörte das Wachstum auf. Es ist da der Weg vorgezeichnet, der endlich zu dem Ziele, eine Kultur des Pilzes zu gewinnen, führen dürfte. Kulturen in sterilisierten Gefäßen zeigen in der Regel eine eigentümliche Schleifenbildung im unteren Teile des jungen Halmes, wie sie bisher noch bei keiner Pflanze beobachtet wurde. Ob die Ursache derselben in besonderen morphologischen Verhältnissen dieser Keimpflanze oder in dem Einflusse des hier stets vorhandenen Pilzes liegt, kann nicht entschieden werden.

In analoger Weise kommt auch bei Lolium perenne L. und Lolium italicum A. Br. ein Pilz in den Früchten vor; doch ist seine Lagerung nicht konstant. Die Hyphen treten da mitunter ins Stärkeendosperm ein. Der Pilz infizierte hier die Pflanzen von außen und vernichtet auch das Keimvermögen der Früchte. Von einem symbiotischen Verhältnisse ist hier keine Rede.

Matouschek (Reichenberg).

Butler, E. J., Pilzkrankheiten in Indien im Jahre 1903. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1905. p. 44.)

Verf. gibt eine Uebersicht über die bemerkenswertesten Pflanzenkrankheiten, die dem Laboratorium des kryptogamischen Botanikers der ostindischen Regierung während des Jahres 1903 zugegangen sind oder die er auf seinen Reisen in demselben Jahre beobachtet hat.

Hervorgehoben werden die Pilzkrankheiten an Getreidearten und Futtergewächsen, Hülsenfrüchten, Kartoffeln, Tomaten u. s. w., Zuckerrohr, Tee- und Kaffeepflanzen, Palmen, Holzgewächsen, Reben und anderen

Pflanzen. Da ein kurzer Auszug aus dieser Abhandlung nicht möglich ist, so muß in Bezug auf die Einzelheiten auf das Original verwiesen werden. Stift (Wien).

Petri, L., Sopra la particolare localizzazione di una colonia bacterica nel tubo digerente delle larve della Mosca olearia. (Rendiconti d. Accademia d. Lincei (5). Vol. XIII. 1904. 2. Sem. p. 550.)

Vorläufige Mitteilung über den Befund von Bakterienkolonieen in den Seitensäcken des vorderen Teiles der Mesenterons bei der Larve von Dacus oleae, der Oelbaumfliege. Am Ende der Larvenperiode werden die Bakterien vermutlich ausgestoßen, denn man findet davon keine Spur in der Puppe. Pantanelli (Rom).

Stift, A., Ueber die im Jahre 1904 beobachteten Schädiger und Krankheiten der Zuckerrübe und einiger anderer landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. (Oesterreichisch-Ungarische Zeitschr. für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1905. p. 9.)

I. Die Zuckerrübe.

A. Tierische Feinde.

Besondere Klagen wurden über Engerlinge aus Böhmen und Ungarn laut. Eine arge Kalamität bildeten stellenweise in Böhmen die Drahtwürmer, von welchen in einem Meierhof an einem Tage 70000 Exemplare gesammelt wurden. In Mähren hat man als Köder Kartoffel- und Karottenschnitte mit gutem Erfolg ausgelegt; auch Rübenstücke (von der Zucht ausgeschlossener Samenrüben) haben sich gut bewährt, noch mehr aber eine Kombination von Chilisalpeter mit den Rübenstücken. Ein Bauer streute Mais zwischen die Rübenpflanzen, welcher von den Krähen ausgesucht wurde, die dabei auch unter den Drahtwürmern gründlich aufräumten. Aaskäferlarven sind in manchen Gegenden Mährens, Böhmens und Galiziens in enormen Mengen aufgetreten; in Galizien mußte das Vergiften der Rübenblätter mit einer Brühe von Schweinfurtergrün wiederholt vorgenommen werden, um dem massenhaften Auftreten dieser Larven begegnen zu können. Das Auftreten der Rüsselkäfer und Erdflöhe bietet keinen Anlaß zu besonderen Bemerkungen. Die Erdraupen sind massenhaft in Mittelböhmen, Nordmähren und Schlesien aufgetreten und haben besonders in Böhmen noch im Herbst Anlaß zu Klagen gegeben. Ihre Fraßbeschädigungen haben vielfach die Meinung aufkommen lassen, daß es sich um eine besondere Rübenkrankheit, verursacht durch Pilze, handele, was jedoch nicht der Fall war. Die Maden der Runkelfliege und die Blattläuse, welche im Jahre 1903 in enormen Mengen aufgetreten sind und einen ganz kollosalen Schaden verursacht haben, bieten glücklicherweise keinen Anlaß zu einer besonderen Hervorhebung; erstere Schädlinge traten stärker nur in Ostböhmen auf, letztere in Niederösterreich, ohne aber ernstlich zu schaden. In einigen Gegenden Böhmens traten die Maden der Kohlschnacke auf, die vielfach mit den Erdraupen verwechselt werden; der Schaden war jedoch nur ein geringer. Bemerkenswert ist das bedeutende Auftreten der Milbenspinne in der zweiten Hälfte des August auf einigen Rübenfeldern in Mähren, wodurch die Blätter derart beschädigt wurden, daß sie sich einrollten und abstarben; dementsprechend zeigten auch die Rübenwurzeln

nur eine kümmerliche Entwickelung, da sie nur 9—87 g wogen. Die Ausbreitung dieses Schädlings wurde jedenfalls durch das warme Wetter besonders begünstigt und ist darum von Interesse, nachdem bis jetzt fühlbare Schädigungen durch die Milbenspinne noch nicht bekannt sind. Tausendfüßer haben in Böhmen stellenweise einen Schaden bis zu 12 Proz. verursacht. Die Rübennematoden haben wie alle Jahre mehr oder minder geschadet und bieten keinen Anlaß zu besonderen Hervorhebungen. Feldmäuse sind in außerordentlichen Mengen in Böhmen aufgetreten und hat man in den betreffenden Gegenden noch Ende September sehr geklagt.

B. Krankheiten der Zuckerrübe.

Der Wurzelbrand trat stellenweise in Böhmen und Nordmähren derart auf, daß ein Nachbau notwendig wurde; in einem Falle wurde die Krankheit durch das massenhafte Auftreten des Moosknopfkäferchens (Atomaria linearis) hervorgerufen. Die Herz- und Trockenfäule gehörte infolge der abnormen Witterungsverhältnisse zu der verbreitetsten Rübenkrankheit; infolge der zahlreichen Einsendungen aus den verschiedensten Gegenden Oesterreich-Ungarns, ferner aus Deutschland, Italien und Frankreich konnte die Krankheit in allen ihren Erscheinungen studiert werden. Die vielen trockenfaulen Rüben haben auch zu Schwierigkeiten in der Arbeit der Zuckerfabriken Veranlassung gegeben. In einigen Fällen wurden in den erkrankten Geweben der Froschlaichpilz Leuconostoc mesenterioides gefunden. Die Blattbräune, verursacht durch den Pilz Sporidesmium putrefaciens Fuckel, war ungemein häufig. Dieser Pilz wurde immer nur auf den absterbenden Blättern, niemals aber in der Rübenwurzel gefunden; er ist daher nur ein Blattbewohner und an der Entstehung der Herz- und Trockenfäule nicht beteiligt. Der Gürtelschorf wurde an 7 Rüben Ende Oktober konstatiert, welche im Gewicht von 325 bis 1200 g schwankten und Zuckergehalte von 14,0 bis 16,3 Proz. aufwiesen. Sämtliche Rüben waren im Innern weiß und vollständig gesund, so daß nach allem der Krankheit kein gefährlicher Charakter beigemessen werden konnte. Möglicherweise lag die Ursache der Krankheit in der abnormen Trockenheit der Vegetationsperiode. Nach Krüger verursachen Pilze (Oospora-Arten) und niedere Tiere (Enchytraeiden) die Krankheit. In den untersuchten Rüben konnten Enchytraeiden nicht gefunden werden; bezüglich des Auftretens von Oospora-Arten maßt sich Verf. noch kein Urteil zu.

II. Andere landwirtschaftliche Kulturpflanzen.

Das Auftreten des Getreideblattpilzes Phoma Hennebergii Kühn wurde auf Winterweizen in Nordböhmen beobachtet; das Saatgut hatte eine Kupferbeize erhalten, die einen gewissen Erfolg gehabt hat, da auf der Herrschaft der Weizen die Krankheit überwunden hat, während auf benachbarten Bauernfeldern die kranken Pflanzen eingeackert werden mußten. Der Weizenhalmtöter (Ophiobolus herpotrichus Sacc.) wurde auf Einsendungen aus Ungarn konstatiert; der Getreidelaufkäfer hat in Mähren Kornsaaten in enormen Mengen befallen, in Böhmen wurden die reifenden Schoten des Rapses nicht unhäufig von den Maden der Kohlgallmücke befallen. Weiter wurden beobachtet: Die Kohlhernie (verursacht durch Plas-

modiophora Brassicae Woron.), Erdflöhe auf Kohlarten, Aepfelschorf (Fusicladium dendriticum Fckl.), die Blattbräune des Birnbaumes (wahrscheinlich durch Stigmatea Mespili Sor. verursacht) und die Taschen- oder Narrenkrankheit der Zwetschgen (Exoascus pruni Fuckel). Diese Krankheit war in manchen Gegenden Niederösterreichs sehr verbreitet, ohne daß man ernstlich an irgend welche Bekämpfung denkt. Schließlich sei noch hervorgehoben, daß das beobachtete Vergilben der Blätter von Zwetschgenbäumen wahrscheinlich durch abnormen Wassermangel verursacht wurde, und daß Auswüchse an Nußbaumblättern jedenfalls durch die Tätigkeit einer kleinen Gallmilbe hervorgerufen worden sind; merkwürdigerweise blieben benachbart stehende Walnußbäume frei von diesem Befall.

Strohmer, F. und **Stift, A.**, Ueber die Veränderungen der Zuckerrübenwurzel bei Aufbewahrung unter Luftabschluß. (Oesterr.-ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtschaft. Heft 6. 1903. 16 p.)

An Hand der Literatur und durch die eigenen Studien gelangen Verff. zu folgendem Resultate:

Der Zuckerverlust ist beim Lagern der Zuckerrübenwurzeln unter Ausschluß von freiem Sauerstoff, selbst bei Vermeidung von wirklicher Fäule und Schimmelbildung, viel größer als bei Aufbewahrung der Rübe unter sonst gleichen Umständen, jedoch bei Erhaltung der normalen Atmung, wobei im ersten Falle allerdings zumeist auch der Tätigkeit des Leuconostoc mesenterioïdes als Anaërobionten, dessen Beseitigung mit Rücksicht auf seine große Widerstandsfähigkeit heute eben noch praktisch unmöglich ist, eine wichtige Rolle zugeschrieben werden muß. Die Zersetzungsvorgänge laufen hierbei fast ausschließlich an den vorhandenen Rohrzuckermolekülen ab. Matouschek (Reichenberg).

de Istvánffy, Gg., Sur la perpétuation du mildiou de la vigne. (Compt. rend. de l'acad. des sciences. T. CXXXVIII. p. 643.)

Die Fortpflanzung des „Mehltau"-Erregers, sowie sein erneutes Auftreten an einmal davon befallenen Rebstöcken läßt es äußerst wahrscheinlich erscheinen, daß das Mycelium dieses Pilzes im stande ist, an gewissen Stellen der Pflanze sich in latentem Lebenszustand zu erhalten, so den Winter zu überdauern, um im Frühjahr sich aufs neue zu entwickeln. In der Tat gelang es dem Verf., Mycel in latentem Lebenszustand in verschiedenen Organen des Weinstocks aufzufinden.

1) In der Rinde der Rebe, die dadurch eine blaugelbe Farbe erhält. Das Mycel dringt in das Parenchym der primären Rinde ein und bildet dort ein Netz, wie es ähnlich von Cuboni beim Wachstum des Mycels in den grünen Blättern beobachtet wurde. Dies Mycel rührt von Spätinfektionen während der letzten Herbsttage her.

Das überwinternde Mycel besitzt ein dichtes Protoplasma von dunkelgelber Farbe. Oefters wurde auch Mycel in der Nähe chlorophyllführenden Gewebes gefunden, es war dann farblos und stark lichtbrechend, und es ließen sich angeschwollene Längswürzelchen beobachten. Bei der Untersuchung des Pilzwachstums in grünen Trieben zeigte es sich, daß das Mycel zwischen den Zellen wanderte, und zwar nicht nur in den Gefäßbündeln, sondern auch indem es sich zwischen

die Wände benachbarter Zellen einzwängt. In der äußeren Hülle der Triebe kam es hierbei zur Oosporenbildung.

2) In den tiefer liegenden Blattschuppen der Knospen. Dies Vorkommen war schon von Cuboni beobachtet worden.

3) Im eingeschrumpften Fleisch der Träubchen, die den Winter über an den Stöcken verblieben waren.

Durch diese einfache Erklärung der Fortpflanzung des Mehltaus wird zugleich ein Hinweis auf die erfolgreiche Behandlung und Unterdrückung dieser Traubenkrankheit gegeben. Koeppen (Danzig).

Lüstner, G., Weitere Beobachtungen über die Verbreitung des bekreuzten Traubenwicklers. (Bericht der Königl. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim für das Etatsjahr 1903. p. 187.)

Der bekreuzte Traubenwickler (Grapholitha botrana W. V.) nimmt in den Weinbergen des Rheingaues jedes Jahr mehr überhand. Besonders zahlreich flogen die Motten in der Rüdesheimer Gemarkung und wurde der Schädling auch in der Nähe von Oberlahnstein angetroffen. Klebfächer wurden bei der Bekämpfung der Motten erfolgreich angewendet. Pósch (Grinád).

Heinricher, E., Melampyrum pratense L., ein in gewissen Grenzen spezialisierter Parasit. (Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. Bd. XXII. 1904. Heft 8. p. 411—414.)

Von der Anschauung ausgehend, daß bei Melampyrum pratense und M. silvaticum der Saprophytismus bei der Ernährung eine maßgebende Rolle spiele, wurden mehrere Jahre Kulturversuche ausgeführt, die folgende Ergebnisse lieferten:

1) Alle untersuchten Arten der Gattung Melampyrum (M. arvense, barbatum, nemorosum, silvaticum, pratense) sind parasitisch. 2) M. pratense und M. silvaticum, etwas weniger M. nemorosum, bilden nicht nur an lebenden Nährobjekten, sondern auch an toten Humuspartikelchen reichliche Haustorien. 3) Durch saprophytische Ernährung allein gelingt die Aufzucht der Pflanzen zu vollkommener Entfaltung nicht; der Schwerpunkt der Ernährung ist im Parasitismus gelegen. 4) M. pratense ist in seinem Parasitismus teilweise spezialisiert; als Nährpflanzen sind solche, die Mykorrhizen bilden, geeignet: Kupuliferen, Koniferen und Ericaceen. 5) M. silvaticum nähert sich M. pratense in seiner Lebensweise sehr, doch ist das Gebundensein an Mykorrhizenpflanzen nicht so streng durchgeführt. Eine ausführliche Arbeit über Melampyrum soll dieses Jahr folgen. Pósch (Grinád).

Nalepa, Alfred, Neue Gallmilben. 23. und 24. Fortsetzung. (Anzeiger d. Kaiserl. Akademie d. Wissenschaften, naturw. u. math. Klasse. 1903. No. 25. p. 292—294; 1904. No. 13. p. 180—181. No. 23. p. 335—336.)

Neu beschrieben werden:

1) Eriophyes Pampaninii Nal. et Cecc. (erzeugt abnorme Behaarung der Blütenblätter und Deformation der Blätter von Weinmannia hirta Sw.); 2) Eriophyes Rechingeri Nal. (erzeugt Vergrünung der Blüten und Bildung sekundärer Köpfchen auf Crepis biennis L.); 3) Phyllocoptes oligostictus Nal. (in vergrößerten

Köpfchen von Crepis biennis L.); 4) Eriophyes Morrisi Nal. (erzeugt sehr kleine, halbkugelförmige Gallen auf der Oberseite, seltener auf der Unterseite und den Blattstielen von Acacia sp. in Westindien); 5) Eriophyes bucidae Nal. (erzeugt auf der Blattunterseite von Bucida buceros L. Erineumbildungen, welche blasige Ausstülpungen der Blattspreite ausfüllen, Barbados); 6) Phyllocoptes Azaleae Nal. (verursacht Blattrandrollung nach unten auf Azalea indica-hybrida in Nord-Holland).

Bisher noch nicht untersuchte Phytoptocecidien:

1) Pimpinella saxifraga L., fransige Zerteilung und Rollung der Blätter: Eriophyes peucedani (Can.).

2) Quercus coccifera L., Erineum impressum: E. ilicis (Can.).

3) Ulmus montana With., Blattpocken: E. filiformis (Nal.).

4) Crataegus oxyacantha L., Bräunung der Blätter: Epitrimerus armatus (Cn.) Nal. Matouschek (Reichenberg).

Trotter, A., Osservazioni sugli acarodomazii. (Bull. d. Soc. Bot. Ital. 1904. p. 82—86.)

Beschreibung zweier neuer Milbenstätten. Die eine stellt eine dichte, gelbe Behaarung neben den mittleren Blattrippen von Ocotea foetens dar, die andere bildet ebenfalls weißliche Haarbüschel in den Aderwinkeln der Blätter von Cordia Rothii (Borrag.) Nach einer Ergänzung der bezüglichen Literatur wird von Verf. auf verschiedene einschlägige Fragen hingewiesen. Pantanelli (Rom).

Trotter, A., Contributo alla conoscenza del sistema secretore in alcuni tessuti prosoplastici. (Annali di Botanica. Vol. I. 1903. p. 123—133.)

Die Sekretionsgewebe der Gallen waren bisher wenig bekannt. Auf einer Galle von Cynips calicis fand Beijerinck schleimbildende Drüsenhaare, und Küster spricht von einem Sekretionsgewebe in einer Galle auf Quercus Wisliceni.

Verf. beschreibt von mehreren Gallen auf verschiedenen Eichenarten das aus einreihigen, mehrzelligen, harzausscheidenden Haaren bestehende Absonderungsgewebe, welches sich von dem auf normalen Organen der Eiche vorhandenen Sekretionssystem kaum unterscheidet. Manche andere Gallen scheiden Harz aus, ohne einen besonderen Apparat dazu auszubilden. Es folgen einige Betrachtungen über die biologische Bedeutung dieser Harzbekleidung für die Galle.

Pantanelli (Rom).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Statkewitsch, Paul, Zur Methodik der biologischen Untersuchungen über die Protisten. (Archiv für Protistenkunde. Bd. V. 1904. p. 15—39.)

Es werden zwei ganz verschiedene Gegenstände behandelt, die Dauerkultur der Protozoen und die Untersuchung lebender Protisten in zähflüssigen Medien zum Zweck der Verlangsamung ihrer Bewegungen.

Kulturen von Protozoen auf Heu- oder Blattaufgüssen arten nach

einer bestimmten Zahl von Generationen aus oder gehen völlig zu Grunde. Verf. ist nicht der wiederholt laut gewordenen Ansicht, daß hier eine physiologische Degeneration aus inneren Gründen vorliege, sondern er meint, daß nach den neueren Versuchen von Kulagin und Calkins unter allen Umständen nur die Verschlechterung der Nahrungsbedingungen am Absterben der Kultur schuld ist. Es läßt sich zeigen, daß man Jahre hindurch eine unendliche Anzahl von Paramaecium-Generationen erhalten kann, wenn man für Ersatz der Nahrung und Ableitung der Stoffwechselprodukte sorgt. Für die Belebung und Verbesserung der Kulturen kommen nach seinen Erfahrung hauptsächlich vier Methoden in Betracht. Es ist einmal die Erneuerung des Wassers. Sie muß aber sorgfältig und langsam unter Verwendung eines Hebers geschehen. Faule Blätter werden mit einer Greifzange herausgenommen und durch neue ersetzt. Von sehr guter Wirkung ist zweitens das einfache Umrühren der Kultur mit einem Glasstab. Dadurch werden Nahrungsstoffe und Ausscheidungsprodukte, die sich namentlich an der Oberfläche in schädlicher Weise sammeln, gleichmäßig verteilt. Dasselbe kann man drittens durch Neutralisation der Kultur mit kohlensaurem Natrium erreichen. Die schädliche, saure Reaktion, die sich in den oberen Schichten der Kultur bald einstellt, wird so beseitigt. Viertens hat Verf. auch eine Verbesserung der Kulturen nach dem Zusatz mancher Salze, besonders einer geringen Quantität von phosphorsaurem Calcium, eintreten sehen.

Schon im Jahre 1884 hat Stahl den Vorschlag gemacht, zur Beobachtung von Schwärmern halbflüssige Gelatine zu verwenden, in der die zu heftigen Bewegungen der Geißeln gehemmt werden. Bei der Ausführung zeigte diese Methode vielerlei Mängel. Es war sehr schwierig, die richtige Konsistenz der Lösung zu erreichen und sie bei der Abhängigkeit der Gelatinelösungen vor der Temperatur zu bewahren.

Verf. hat nun eine große Zahl anderer schleimgebender Stoffe auf ihre Verwendbarkeit als Kulturmedien untersucht. Einige von diesen schieden gleich nach den ersten Versuchen aus, weil sie entweder zu wenig Schleim gaben (Lichen islandicus, Semen Lini u. a.) oder für Protisten giftige Stoffe enthielten (Laminaria digitata, Tubera Salep, Radix Althaeae u. a.). Es blieben dann noch folgende fünf Stoffe übrig: Alga Caragaheen, Semen Psyllii, Semen Cydoniae, Gummi Tragacanthae und Agar-Agar. Von diesen ist am meisten zu empfehlen Semen Psyllii. Die Samen gaben beim Kochen mit der 200fachen Wassermenge eine schleimige Flüssigkeit. Im kalten Wasser quillt der Schleim langsam zu einer sehr zarten, zähen, völlig durchsichtigen Flüssigkeit auf. Die Bewegungen der Protisten werden darin vorzüglich verlangsamt. Sehr brauchbar ist auch Alga Caragaheen. Wenige Zweige der Alge, die in einer schwachen Sodalösung gewaschen sind, werden in einem Säckchen in die Kultur gebracht. Der Schleim geht ganz allmählich in das Wasser über, das ganz langsam zunächst eine zähflüssige, dann eine sirupöse, schließlich eine leimartige Konsistenz erhält. Quittensamen und Tragakanth quellen sehr rasch auf, sind also in solchen Fällen zu verwenden, in denen man in kurzer Zeit einen sehr steifen Schleim braucht. E. Jahn (Berlin).

Claussen, N. Hjelte, On a method for the appliation of Hansen's pure yeast system in the manufacturing of well-conditioned English stock beers. (Journal of the

Institute of Brewing. Vol. X. 1904. No. 4. p. 308.) Eine Methode zur Anwendung von Hansens Reinzuchtssystem bei der Herstellung von englischen, gelagerten Biersorten. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XXI. 1904. No. 26. p. 370.)

Das Hansensche Reinzuchtsprinzip ist, wie bekannt, im allgemeinen in dem Brauereibetriebe aufgenommen, sowohl in den Ober- als auch in den Untergärungsbrauereien nicht nur auf dem Festlande Europas, sondern auch nach einem großen Maßstab an vielen Orten in den anderen Weltteilen. Es ist dann in hohem Grade auffallend, daß es bis jetzt nicht in den Obergärungsbrauereien in England hat Eingang finden können. Wir gedenken hier nur des Reinzuchtssystems in seiner einfachsten Gestalt, nämlich der Anwendung einer einzigen ausgewählten Saccharomyces-Art. Der Grund, warum die von Alfr. Jörgensen in der letztgenannten Richtung angestellten Versuche nicht zu dem gewünschten Resultate führen konnten, ist nun von Claussen dargelegt. Es ist nämlich ihm gelungen, durch Experimente darzutun, daß die Nachgärung oder sekundäre Gärung von einer besonderen Hefenart hervorgerufen wird, aber es ist nicht ein Saccharomyces, was einige Forscher früher geglaubt hatten, sondern ein nicht Sporen bildender Sproßpilz, welcher zu der Torula-Gruppe gehört, und er hat demselben, seiner für die englische Brauerei großen praktischen Bedeutung wegen, den Namen Brettanomyces gegeben. Unter diesem Namen werden verschiedene im Betriebe mehr oder weniger brauchbare Varietäten eingeschlossen, und sie sind es, welche eine notwendige Bedingung sind, nicht nur für die Erreichung des richtigen Kohlensäuregehaltes, sondern auch für die Bildung des eigenartigen Geschmackes und feinen Aromas, welche die englischen gelagerten Biersorten auszeichnen und in hohem Maße ihren Wert bedingt.

Brettanomyces ruft in Würze oder in Bier, welches mit gewöhnlicher Bierhefe vergoren ist, eine langsam verlaufende Gärung hervor. Die dabei entwickelte Kohlensäure wird aber fest zurückgehalten und bildet einen voluminösen und dauerhaften Schaum. Während der Gärung bildet sich etwas Säure und einige ätherische Stoffe, welche den gewünschten Geschmack und Geruch produzieren.

Durch die Anwendung des Reinzuchtsystems in der soeben beschriebenen komplizierten Gestalt hat der Verf. die bisher dunkle Frage gelöst. Das Prinzip ist, daß die Gärung in zwei Abteilungen vor sich geht; erst eine Hauptgärung mit einer Reinkultur einer ausgewählten englischen Oberhefeart (Saccharomyces) und nach dem Abschlusse dieser Gärung eine neue Gärung bei Zusatz einer passenden Reinkultur eines Brettanomyces, welche die Nachgärung ausführt und das Bier in „Kondition“ bringt und den typischen Geschmack und Geruch gibt.

In Betreff der englischen, nicht gelagerten Biersorten (running beer) ist es höchst wahrscheinlich, daß eine Einzelhefe allein ausreichend sein wird, um die ganze Gärung durchzubringen. Gibt man Brettanomyces zu untergärigem Bier als auch zu obergärigem, so wie es auf dem Festlande hergestellt wird, nimmt das Bier einen etwas unreinen Geschmack an; auf diese Weise angewandt, hat die Methode also keinen Wert.

Brettanomyces ist in den englischen Brauereien allgemein in der unreinen Stellhefe verbreitet, welche noch gewöhnlich angewandt wird, und an den Geräten, welche hier benutzt werden.

Es ist einleuchtend, welchen Gefahren man ausgesetzt wird, wenn

man in einer Fabrikation von einer zufälligen Infektion abhängig ist, und überdies, wenn diejenigen Wege, durch welche Brettanomyces in den Betrieb eingeführt wird, auch allerlei schädlichen Organismen Zutritt geben. Durch das beschriebene Verfahren ist nun auch die Fabrikation der genannten englischen Biersorten auf einer rationellen Bahn angekommen. Schiönning (Kopenhagen).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Pagliani e **Bertarelli, E.**, Un nuovo apparecchio per la sterilizzazione dell'acqua (Apparecchio Salvator). (Rivista di Ingegneria sanitaria. 1905.)

Die Compagnie aérohydraulique von Paris, Erbauerin eines Apparates namens „Salvator“ zur Sterilisation des Wassers, hat dem Kgl. Hygienischen Institut in Turin den Auftrag erteilt, einen dieser Apparate hinsichtlich aller Beziehungen, die für das praktisch-wissenschaftliche Problem der Sterilisation des Wassers in Frage kommen, zu erproben.

Der Probeapparat war klein, sein Ertrag mußte nach den Angaben des Hauses 25 l pro Stunde sein. Aus den angestellten Versuchen ergibt sich, daß Keime, wie Typhusbacillus und Sarcina aurantiaca, auch wenn sie in übergroßer Quantität vorhanden sind, in diesem Apparat ganz bestimmt getötet werden, selbstverständlich wenn die Abflußgeschwindigkeit innerhalb der angezeigten Grenzen gehalten wird.

Es fand sich wohl die Entwickelung einiger Kolonieen des B. subtilis, aber in wirklich bedeutungsloser Anzahl vor. Dem Apparat gelingt es also nicht, eine widerstandsfähige Spore zu vernichten, wie die des B. subtilis, immerhin aber verringert er die Anzahl derselben ganz bedeutend, wenn der B. subtilis in großen Quantitäten vorhanden ist.

Verff. sind somit der Ansicht, daß der Apparat, was die technische Seite anbelangt, seinem Zwecke entspricht. Ueber die Brauchbarkeit desselben in der Praxis erlauben uns die wenigen angestellten Versuche nur zu bestätigen, daß der Apparat mit etwas Aufmerksamkeit in der Behandlung (konstanter Druck, genaue Festsetzung des Erträgnisses) gut und ohne Mißstände arbeitet. Natürlich fehlte uns jede Erfahrung hinsichtlich seiner Dauer und Widerstandsfähigkeit. Etwas erheblich will uns die Auslage für Sterilisation immerhin erscheinen, die aber mit dem großen Apparat vielleicht wird reduziert werden können.

Bertarelli (Turin).

Behrens, J., Versuch über die Bekämpfung des Aescherichs und der Blattfallkrankheit. (Bericht d. Großherzogl. badischen landwirtschaftl. Versuchsanstalt Augustenburg über ihre Tätigkeit im Jahre 1903. p. 50—53.)

Aus den tabellarisch veranschaulichten Versuchsresultaten ergab sich, daß sich das Unterlassen des Spritzens und die Behandlung mit dem Linkschen Mittel (Mischung von Weinsäure und Kupfervitriol) bezüglich des Ertrages bedeutend gerächt hatte, und wurde das höchste Mostgewicht auf den üblich gespritzten und geschwefelten Parzellen erreicht. Pósch (Grinád, Ungarn).

Molz, Emil, Die Selektion im Dienste der Reblausbekämpfung. (Deutsche landw. Presse. 1905. No. 17.)

Verf. weist auf seine, besonders gelegentlich einer Studienreise in Oesterreich gewonnene Ueberzeugung hin, daß die Benutzung von wenig gegen Reblauserkrankung empfindlichen Stöcken ein wichtiges Bekämpfungsmittel der Plage sei, zumal auch die Resistenz der amerikanischen Reben nach Riley ein Produkt der natürlichen Zuchtwahl ist. Im Zusammenhang mit der Auswahl widerstandsfähiger Stöcke ist auch auf Begünstigung schneller und guter Wurzelbildung Wert zu legen.

Bis auf diesem Wege aber Erfolge erreicht sind, wird die Veredelung auf amerikanischer Unterlage das beste Hilfsmittel bleiben.

Paul Ehrenberg (Breslau).

Bouygues, H., La culture du Tabac et la Nielle. (Procès-Verbaux de la Soc. Linn. de Bordeaux. 6. janv. 1904. 10 pp.)

Verf. wiederholt im einzelnen die Art und Weise, mit der sich die Verrichtungen für den Anbau des Tabaks vollziehen (Pflücken, Entblättern, Klopfen, Ablauben, Abgipfeln, Ausbrechen überflüssiger Augen) und kritisiert alles, was dabei die Verbreitung der „Brand“ (Nielle) genannten Blattkrankheit zu begünstigen scheint.

Er zieht aus seiner Arbeit folgende interessanten Schlüsse:

1) Der Pflanzer soll zur Errichtung der Warmbeete stets ein neues Gelände wählen.

2) Das direkte Keimen der Körner auf dem Grund der Warmbeete ist dem beschleunigten Keimen vorzuziehen.

3) Nur die Pflanzen mit ganz grünen Blättern dürfen ausgesucht werden.

4) Der Pflanzer soll die Handhabungen, die sich auf die Beseitigung der Blätter oder Knospen beziehen, nur mit der von einem Handschuh oder einem Tuch bedeckten Hand verrichten. Er soll zuerst die kranken Stengel behandeln, sodann die gesunden, und zwar mit bloßen Händen.

5) Der Kehricht, die Abfälle etc., sollen verbrannt werden.

Houard (Paris).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines.

Bolle, Johann, Bericht über die Tätigkeit der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Görz im Jahre 1904. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Jg. VIII. 1905. Heft 3. p. 247—270.)

Slaus-Kantschieder, J., Bericht über die Tätigkeit der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Spalato im Jahre 1904. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterr. Jg. VIII. 1905. Heft 3. p. 271—284.)

Stutzer, A., Jahresberichte der angewandten Chemie und verwandter Gebiete. Die Fortschritte der Agrikulturchemie im Jahre 1904. (Chemiker-Ztg. Jg. XXIX. 1905. N. 20. p. 257—260. [Bodenbakteriologie.])

v. Weinzierl, Theodor, Bericht über die Tätigkeit der k. k. Samenkontrollstation (k. k.

landw.-bot. Versuchsstation) in Wien im Jahre 1904. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterr. Jg. VIII. 1905. Heft 3. p. 285.)

Wolfbauer, J., Bericht über die Tätigkeit der k. k. landw.-chemischen Versuchsstation und der mit ihr vereinigten k. k. landw.-bakteriologischen und Pflanzenschutzstation in Wien im Jahre 1904. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterr. Jg. VIII. 1905. Heft 3. p. 177—246.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Harrison, F. C. and **Barlow, B.**, The steam still. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 3/4. p. 119—121. 3 Fig.)

Systematik, Morphologie.

Cazalbou, Sur l'existence du Trypanosoma dimorpha en Guinée française. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. N. 9. p. 395—396.)

Corsini, Andrea, Ueber die sogenannten Schwefelkörnchen, die man bei der Familie der Beggiatoaceae antrifft. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 9/10. p. 272—289. 3 Taf.)

van Hest, Abplattungen der Hefezellen. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 12. p. 176—177. [nebst Nachwort von Rommel].)

Koslowsky, J. J., Zur Lehre von den Infusorien, die als Parasiten im Verdauungskanale des Menschen vorkommen; ein Fall von Balantidium coli im Darme des Menschen. (Arch. f. Verdauungskrankh. Bd. XI. 1905. Heft 1. p. 31—57.)

Mc Dougall, R. Stewart, The Bull Mite (Rhizoglyphus echinopus). (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1905. N. 12. p. 748.)

de Magalhães, P. S., Notes d'helminthologie brésilienne. 12. Les cysticercoide du Taenia cuneata. (Arch. de parasitol. T. IX. 1905. N. 2. p. 305—318. 4 Fig.)

Müller-Thurgau, H., Nachweis von Saccharomyces ellipsoideus im Weinbergsboden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 9/10. p. 296—297.)

Penning, C. A., Les trypanosomes aux Indes Néerlandaises. [Fin.] (Janus. Année X. 1905. Livr. 3. p. 137—144.)

Roger, J. et **Greffulhe**, Sur une Trypanosome observée en Algérie. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 9. p. 396—397.)

Wurth, Theophil, Rubiaceen bewohnende Puccinien vom Typus der Puccinia Galii. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 9/10. p. 309—320. 14 Fig.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

Durlaux, Die Kolloide. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 11. p. 160—165. (Bull. soc. chim. Paris 1905. Heft 2.)

Euler, Hans, Chemische Dynamik der zellfreien Gärung. (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. XLIV. 1905. Heft 1/2. p. 53—73.)

Guilliermond, A., La morphologie et la cytologie des levures. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année III. 1905. T. III. N. 5. p. 177—184. 6 Fig.)

Hiltner, L., Gründüngung und Impfung im Walde. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 3. p. 25—27. 1 Fig.)

Jones, L. R., The cytolytic enzyme produced by Bacillus carotovorus and certain other soft rot bacteria. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 9/10. p. 257—272.)

Maurizio, A., Stickstoff und Bakterien im Boden. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 13. p. 340—342.)

Nathan, Leopold und **Schmid, Arthur**, Ueber den Einfluß der Metalle auf gärende Flüssigkeiten. [2. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 9/10. p. 289—295.)

Pringsheim, H. H., Zur Fuselölfrage. (Ber. d. deutschen chem. Ges. Jg. XXXVIII. 1905. N. 2.)

Stoklasa, Julius, Ueber Kohlenhydratverbindung im tierischen Organismus. (Ber. d. dtschn. chem. Ges. Jg. XXXVIII. 1905. N. 2. p. 664.)

Tullo, T. W., Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Zuckerlösungen auf die Tötungstemperatur bei verschiedenen Hefenarten. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 11. p. 155—160.)

Will, H., Rotes Grünmalz. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVIII. 1905. N. 4. p. 128.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur belebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Ehrenberg, Paul, Entgegnung auf das Referat in Heft 18, Bd. XIII. dieser Zeitschrift (bakterielle Bodenuntersuchung). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 9/10. p. 302—308.)

Stahl-Schröder, A., Ueber neuere Forschungen auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie. (Land- u. forstw. Ztg. Riga. Jg. XIX. 1904. N. 8. p. 43—44.)

Fleisch.

Madsen, Th., Toxines et antitoxines. Sur le poison du botulisme et son antitoxine. Oversigt over det K. Danske videnskab. selsk. forh. 1905. N. 1. p. 3—10.)

Milch, Molkerei.

Henseval, M., Les altérations du beurre. (Rev. internat. des falsifications. Année XVII. 1904. Livr. 6. p. 174—176. [Rev. gén. du lait. Année III. 1904. N. 23.])
Rodella, Antonio, Ueber die Herstellung von Käse aus sterilisiertem Eiereiweiß. Ein Beitrag zur Frage und über die Bedeutung der Bakterien für die Käsereifung. 6. Mitt. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 9/10. p. 297—302.)
Salge, B., Immunisierung durch Milch. (Verh. d. 21. Vers. d. Ges. f. Kinderheilk. Breslau 1904. Wiesbaden 1905. p. 83—86.)
Schlossmann, Arthur, Ueber Kindermilch. 1. Ref. (Verh. d. 21. Vers. d. Ges. f. Kinderheilk. Breslau 1904. Wiesbaden 1905. p. 129—160.)
Seiffert, Ueber Kindermilch. (Verh. d. 21. Vers. d. Ges. f. Kinderheilk. Breslau 1904. Wiesbaden 1905. p. 161—193.)
Willem, V. et **Minne, A.**, La traite peut-elle fournir du lait aseptique? (Rev. gén. du lait. T. IV. 1904—1905. N. 6/7.)
Zusatz von Formaldehyd zur Milch. (Dtsche landw. Tierzucht. Jg. IX. 1905. N. 13. p. 151—152.)

Wein, Weinbereitung.

Piot, R., Le vinaigre de vin. (Moniteur vinicole. Année L. 1905. N. 21. p. 82.)
Porchet, Fd., La température des caves et les maladies des vins. (Chronique agric. du canton de Vaud. Année XVIII. 1905. N. 4. p. 89—92.)

Bier, Brauerei.

Claussen, Niels Hjelte, Verfahren zur Herstellung von englischen Bieren, wie z. B. Ale, Stout und Porter, unter Anwendung von Kulturen einer neuen Gruppe von Sproßpilzen (Brettanomyces) (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 13. p. 194—195.)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Kayser, Heinrich, Das Straßburger Verfahren der Formalindesinfektion. (Straßburg. med. Ztg. Jg. II. 1905. Heft 3. p. 61—65.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Bauer, Lebeweise des Heu- und Sauerwurmes. (Dtsche. landw. Ztg. Jg. XLVIII. 1905. N. 13. p. 78.)
Briem, H., Einfluß der Bodenbeschaffenheit auf den Wurzelbrand der Rübe. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXI. 1905. N. 12. p. 94—95.)
Bucholtz, F., Neuere Forschungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten. (Land- u. forstw. Ztg. Riga. Jg. XX. 1905. N. 10. p. 51—53.)
Butler, E. J., Pilzkrankheiten in Indien im Jahre 1903. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 1. p. 44—48.)
Dietel, P., Ueber die Arten der Gattung Phragmidium. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1905. Heft 3. p. 113—132. 11 Fig.)
Hennings, P., Einige schädliche parasitische Pilze auf exotischen Orchideen unserer Gewächshäuser. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1905. Heft 3. p. 168—178.)
Hunter, W. D., Controlling the boll weevil in cotton seed and at ginneries. (U. S. Depart. of agric. Farmers Bull. N. 209. 1904. 31 p. 1 Fig.)
—, The use of Paris green in controlling the cotton boll weevil. (U. S. Depart. of Agric. Farmers Bull. N. 211. 1904. 23 p.)
Kieffer, J. J. und **Herbst, Pablo**, Ueber Gallen und Gallenerzeuger aus Chile. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. I. 1905. Heft 2. p. 63—66.)
Köck, G., Die wichtigsten Brandkrankheiten des Getreides und ihre Bekämpfung. (Mitt. d. k. k. Pflanzenschutzstat. Wien. 2. Flugblatt. Oesterr. Landw. Wchnbl. Jg. XXXI. 1905. N. 9. p. 72.)
Malkoff, Konstantin, Die schädlichsten Insekten und Pflanzenkrankheiten, welche an den Kulturpflanzen in Bulgarien während des Jahres 1903 geschädigt haben. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 1. p. 50—53.)

Müller, Julius, Pediculoides Avenae n. sp., noch eine Milbenkrankheit des Hafers. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 1. p. 23—29. 2 Taf.)

Newstead, R., The felted beech Coccus (Cryptococcus fagi). (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1905. N. 12. p. 755—760. 7 Fig.)

Reh, Schädliche Insekten im Kapland. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 1. p. 48—50.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Hiltner, L., Bericht über die im Frühjahr 1904 im Benehmen mit der k. Agrikulturbotanischen Anstalt in Bayern durchgeführten Hederichbekämpfungsversuche. [Schluß.] (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. III. 1905. Heft 3. p. 27—33. 6 Fig.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 18|20.

Ueber die Brutstätten der Alkoholgärungspilze oberhalb der Erde.

Von **Emil Chr. Hansen.**

Als ich vor ein paar Jahren in dieser Zeitschrift, Bd. X. p. 1, einige neue Untersuchungen über den Kreislauf der Hefenarten in der Natur veröffentlichte, hatte ich die Absicht, kurz nachher die angezeigte ausführlichere Abhandlung herauszugeben; es stellte sich indes heraus, daß weitere Analysen notwendig waren, und da es noch einige Zeit dauern wird, bis ich diese zum Abschluß bringen kann, so werde ich bei dieser Gelegenheit mich wieder darauf beschränken, über die seitdem neu hinzugekommenen Hauptresultate zu berichten. Bei der nachfolgenden Darstellung setze ich voraus, daß der Leser mit meiner oben angeführten Abhandlung bekannt ist.

Wie man sich erinnern wird, wurde es von einigen Forschern in Frage gestellt, ob die zu der Gattung Saccharomyces gehörenden Arten auch in Ländern, deren Klima bedeutend wärmer ist als das von Dänemark und Mitteleuropa, wie z. B. in Italien, ihre normalen Ueberwinterungsstätten in der Erde haben. In der oben genannten Abhandlung gab ich eine Uebersicht meiner diesbezüglichen Untersuchungen in Norditalien. Durch ein von dem Carlsbergerfond bewilligtes Stipendium wurde es mir später ermöglicht, auch in der Umgegend von Florenz, sowie zwischen Rom und Velletri ziemlich ausführliche Untersuchungen vorzunehmen. Das Resultat war, daß auch bei diesen neuen Untersuchungen die von mir aufgestellte Theorie von dem Kreislauf der Hefezellen in der Natur sich in den Hauptzügen bestätigte. Ein Gleiches gilt von der Wiederholung einiger meiner früher im Harzgebirge und in den Alpen (Bozen, Gossensaß und Brenner) ausgeführten Analysen.

Bei meinen ersten Mitteilungen über den Kreislauf der Hefenarten wurde auf das Studium der Herde außer den süßen, saftigen Früchten kein großes Gewicht gelegt. Eine umfangreichere, zusammenhängende Untersuchung nach dieser Richtung hin nahm ich später vor und teilte in der vorerwähnten Abhandlung die Resultate mit. In dieser stellte ich zwei verschiedene Kategorien von Nahrungsquellen auf, die primären und die sekundären. Die reifen, süßen, saftigen Früchte bilden die primären Nahrungsquellen, die sekundären bestehen aus wässerigen Auszügen aus aufgelösten Teilen von Pflanzen und Tieren, darunter auch Dünger, während die süßen Säfte der Früchte ausgeschlossen sind. Bei diesen Untersuchungen stellte es sich klar heraus, daß der Erdboden nicht nur einen Aufenthaltsort, sondern zumeist auch noch Brutstätten bildet, wo eine mehr oder minder deutliche Vermehrung vor sich geht.

Hierdurch wurde ich auf eine Reihe neuer Untersuchungen geführt. Die Erde wird ja auch auf Gegenstände, welche sich — manchmal in bedeutender Höhe — oberhalb der Erdoberfläche befinden, hingeführt. Finden sich nun die Hefezellen auch hier vor? — Bei früheren Unter-

suchungen war es festgestellt worden, daß Staub und dünne Erdschichten welche eine Zeitlang hier gelegen haben, nur rein ausnahmsweise lebende Zellen enthalten; sie sind ja auch unter solchen Umständen natürlich der Gefahr ausgesetzt, durch Vertrocknung bald getötet zu werden. Ein Gleiches ist ebenfalls mit den obersten Erdschichten der Fall, wenn sie mit keiner Vegetation überwachsen sind, sondern der Einwirkung der Sonnenstrahlen und der Witterung bloßliegen. Eine nähere Betrachtung zeigt uns aber, daß größere und kleinere Teile der Erde nicht nur in die Höhe geführt und auf verschiedene oberhalb des Bodens befindliche Gegenstände abgelagert werden, sondern auch hier bald von pflanzlichen Organismen überwachsen werden, so daß das Erdreich mit seiner Vegetation gewissermaßen sich in die Luft empor fortsetzt. In hohlen Bäumen, auf Mauerwerk, auf Felsen, Steinen, Pfählen und anderem Holzwerk finden wir gemeinlich Erdschichten bewachsen mit kleinen Haufen von Gras und anderen Gewächsen; hier wie auch auf den Stämmen der meisten unserer Bäume werden aber namentlich sehr häufig ganze Polster von Moos und Flechten, sowie große Schichten von grünen Algen angetroffen, welche manchmal ziemlich dicke Schichten von Erde überdecken; wir stehen also hier ähnlichen Verhältnissen gegenüber, wie den in der obersten Schicht des Erdbodens obwaltenden. Diese Vegetationen haben einen Unterbau, bestehend nicht nur aus Erdschichten, sondern auch aus aufgelösten Pflanzenteilen. Namentlich von den Moosen wissen wir ja, daß sie von unten absterben und somit bei ihrem Wachstum die Schicht aufgelöster Pflanzenteile vermehren. Die Moose sind geradezu wegen der Leichtigkeit berühmt, mit der sie den Staub auffangen und festhalten, sowie es festgestellt ist, daß sie die Feuchtigkeit der Luft mit Begierde aufnehmen. Das von den Moosvegetationen Gesagte gilt jedenfalls teilweise auch von den von den Flechten und den grünen Algen gebildeten Vegetationen. Sowohl wenn die genannten Vegetationen auf der Erde selbst, als auch wenn sie oberhalb derselben wachsen, bieten sie also den Hefen in mehreren Beziehungen günstige Bedingungen für ihr Fortkommen.

Eine große Anzahl von Hefenarten, welche in wässerigen Auszügen aus diesen Vegetationen mit ihren aufgelösten Teilen nebst der anhangenden Erde gezüchtet wurden, gaben sämtlich eine merkbare Vermehrung, welche im wesentlichen derjenigen entsprach, welche wässerige Auszüge aus ähnlichen Vegetationen auf der unten befindlichen Erde hervorbrachten. In der Natur läßt sich denn auch eine deutliche Uebereinstimmung erkennen zwischen einerseits den Hefevegetationen, welche wir z. B. unter dem Moos, welches irgend einen Baumstamm bedeckt, antreffen, und andererseits denjenigen, welche unter dem Moos der unten befindlichen Erde sich eingenistet haben; auch finden sie sich in den genannten, oberhalb des Erdbodens befindlichen Herden ebensowohl zu allen Zeiten des Jahres vor, wie in den entsprechenden Herden unten im Boden selbst. In den dünnen Erdschichten, welche man hier und da in Rissen der Rinde der Bäume, sowie auf Steinen und anderen Gegenständen antreffen kann, und die mit keiner Vegetation bedeckt sind, werden, wie oben bemerkt wurde, etwa vorhandene Hefezellen wegen Vertrocknung bald absterben. Ueberhaupt sind die Hefen in dieser Beziehung sehr empfindlich. Ueber diese Frage habe ich in der Zeitschrift des Carlsberg Laboratoriums eine Reihe Aufschlüsse mitgeteilt. Später habe ich mit Rücksicht auf die besonderen Fragen, mit welchen wir uns hier beschäftigen, neue Analysen angestellt. Es hat

sich herausgestellt, daß Willia anomala und Pichia membranaefaciens[1]) eine längere Vertrocknung ertragen können als die anderen geprüften Saccharomyceten. Diese beiden Arten besitzen auch eine stärkere Vermehrungsfähigkeit in den oben genannten sekundären Nährflüssigkeiten als die überwiegende Mehrzahl der Saccharomyceten. In diesen Umständen finden wir eine Erklärung der Tatsache, daß sie gerade zu jenen Hefenarten gehören, welche in weiter Entfernung von den primären Entwickelungsherden auftreten und in Perioden anhaltender Dürre noch aushalten, während die meisten übrigen Arten unterliegen. Eine in beiden genannten Beziehungen besonders empfindliche Art ist dagegen Saccharomyces apiculatus. Wenn wir das geringe Widerstandsvermögen bedenken, welches die meisten Hefenarten der Vertrocknung gegenüber besitzen, wird es uns verständlich, daß wir in den dichten, feuchten Laubwäldern reichlichere Hefenvegetationen finden als draußen auf den offenen Plätzen, und daß namentlich an diesen letzteren Stellen die großen Schwankungen auftreten. Ein und derselbe Fleck Land, ein und dasselbe Häufchen Moos auf einem Stein oder einem Baum kann hier im Laufe von ein und demselben Monat ganz verschiedene Resultate ergeben; einmal kann es sehr zahlreiche, ein anderes Mal sehr wenige Hefenzellen aufweisen.

Im Laufe der Jahre habe ich mehrfach, namentlich auf meinen Reisen in Deutschland, Gelegenheit gehabt, Untersuchungen über das Verhalten der Hefenarten in den Weinpflanzungen anzustellen. Eine Zeitlang war es mir ganz unerklärlich, daß mehrere von den den Weingärten entnommenen Erdproben zeitweise weniger Hefezellen, auch von Weinhefepilzen, enthielten, als entsprechende Proben aus den benachbarten Grasfeldern. In einzelnen Fällen enthielt eine größere Anzahl von den Erdproben von Weinbergen (je 50 ccm) sogar gar keine lebenden Zellen, welche als Saccharomyces ellipsoideus hätten bestimmt werden können. An sämtlichen untersuchten Orten hatten die Weinreben jedoch zur Zeit der letzten Traubenlese einen reichen Ertrag an reifen Beeren geliefert. Aehnliche, wenngleich nicht ganz so große Unregelmäßigkeiten machten sich auch bei einigen Analysen von Erde aus verschiedenen Obstgärten und Feldern in der Nähe Kopenhagens bemerkbar. Der Umstand, daß wir keine Hefezellen da fanden, wo sie früher in reichlicher Menge vorhanden gewesen waren, ist in den meisten Fällen darauf zurückzuführen, daß sie durch Vertrocknung getötet worden waren. Wenn wir sie außerhalb der Gebiete der primären Herde dann und wann in größeren Mengen finden, so ist die Ursache erstens in dem Vorhandensein besonders günstiger sekundärer Entwickelungsherde zu suchen, und zweitens darin, daß sie gegen Vertrocknung geschützt waren. Das Studium der Wirkung der Vertrocknung, sowie jenes der Beschaffenheit der sekundären Herde ist von großer Bedeutung für diese Untersuchungen.

Eine Untersuchung über das Verhalten der Arten gegenüber der Temperatur gibt ebenfalls in mehreren Beziehungen Aufklärung über die in der Natur sich abspielenden Vorgänge. Mehrere Arten bewahren selbst bei einer Temperatur der Umgebung von 0° C noch ihre Vermehrungsfähigkeit; unter solchen Umständen erfordert aber die Bildung

1) Die Typen der beiden genannten Gattungen sind die von mir früher unter den Namen Saccharomyces anomalus bezw. Sacch. membranaefaciens beschriebenen Arten; siehe meine Abhandlung „Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten". (Diese Zeitschr. Bd. XII. 1904. p. 529.)

eines einzigen Sprosses mehrere Monate, selbst wenn die Zellen sich in günstiger Nährflüssigkeit befinden. Allgemein genommen, kann man sagen, daß bei einer Temperatur von ungefähr 1—2° C die Vermehrung ins Stocken gerät, und sie nur bei viel höheren Temperaturen lebhaft ist. Demgemäß finden wir denn auch an ein und derselben Stelle zu den verschiedenen Zeiten des Jahres sehr verschiedene Mengen von Hefezellen. Zur Zeit der Reife der Früchte sind sie am zahlreichsten. Zu dieser Jahreszeit sind zumeist nicht nur die Temperaturverhältnisse und Nahrungsquellen günstig, sondern dasselbe gilt auch in hinlänglichem Grade von den Feuchtigkeitsverhältnissen; die Erde weist zu dieser Zeit unter den primären Herden ihr Maximum auf. Daß gleichzeitig auch die sekundären Herde besonders wirksam sind, ergibt sich aus dem oben Gesagten. Danach treten im Laufe des Jahres große Schwankungen ein, welche, wie oben erwähnt wurde, namentlich an solchen Orten sich bemerkbar machen, wo eine starke Vertrocknung stattfinden kann. In einigen der beschriebenen wässerigen Auszüge ging die Sproßbildung mit so großer Langsamkeit vor sich, daß es selbst bei Optimaltemperatur ganze Monate dauerte, ehe eine makroskopisch erkennbare Vegetation sich gebildet hatte. Also Befunde, welche jenen entsprechen, welche wir konstatieren können, wenn die Vermehrung in günstigen Nährflüssigkeiten, aber bei einer Temperatur von 0° oder nahe dabei stattfindet.

Wenngleich die untersuchten sekundären Entwickelungsherde sämtlich bei weitem nicht eine so üppige Vermehrung geben wie die primären, sind sie dennoch wegen ihrer weiten Verbreitung in der Natur von sehr großer Bedeutung. Auch werden durch sie Erscheinungen erklärlich, welche bislang als rätselhaft dastanden.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen über den Kreislauf der Hefenarten gelten im wesentlichen zugleich für die Torula- und Mucor-Arten, sowie auch für mehrere Bakterienarten. Die ersteren bilden ja auch Hefezellen von ähnlicher Beschaffenheit wie die Saccharomyceten; von mehreren dieser sogenannten Torula-Arten aber wissen wir ja auch, daß sie höhere Stammformen haben; hierdurch tritt folglich eine Unterbrechung des Kreislaufes ein, welche bei den Saccharomyceten nichts Entsprechendes hat. Bei den Mucor-Arten entstehen dadurch Differenzen, daß Dünger und andere Nahrungsstoffe für sie eine andere Bedeutung haben als für die Saccharomyceten. Das enorme Widerstandsvermögen dieser Pilze gegenüber der Vertrocknung muß auch hier hervorgehoben werden. In einer besonderen Abhandlung werde ich diese Verhältnisse eingehender erörtern.

Meine neuen Untersuchungen bestätigen in vollem Maße den bei einer früheren Gelegenheit von mir aufgestellten Satz, daß die Erde den wichtigsten Winteraufenthaltsort, sowie überhaupt den großen Aufenthaltsort der Mikroorganismen zu allen Zeiten des Jahres bildet.

In der neuesten Zeit sind in dem vorliegenden Bande dieser Zeitschrift zwei Arbeiten veröffentlicht worden, welche sich auf meine Untersuchungen beziehen, und zwar von Heinze, p. 9 und von Müller-Thurgau, p. 296. Sie geben mir Veranlassung zu den nachstehenden Bemerkungen.

Wenn Zitate aus ihrer Verbindung losgerissen und in kurzgefaßten Ausdrücken summiert werden, entstehen leicht Mißverständnisse und etwas ganz anderes als das, was der Verf. hat sagen wollen. So ist dies auch in der Mitteilung Müller-Thurgaus geschehen. Die Leser

werden von dieser Mitteilung den Eindruck bekommen, daß diejenigen Untersuchungen, welche ich bis 1882 über den Kreislauf der Hefearten in der Natur angestellt hatte, nur auf einige Blumentopfversuche basiert seien; wie aber meine Abhandlungen dartun, ist dies nicht richtig. Die Untersuchungen über Saccharomyces apiculatus wurden eben in besonderem Grade zugleich auf zahllose Analysen von Proben in der Natur selbst basiert. Wenn ich deshalb als eines meiner Resultate feststellen konnte, daß diese Hefeart zu allen Zeiten des Jahres sich in der Erde am Leben findet, verdanke ich den Blumentopfversuchen nicht dies allein. In den zahlreichen Analysen von Erdproben aus der Umgegend Kopenhagens, welche in meiner Abhandlung über den Kreislauf des Sacch. apiculatus in der Natur beschrieben sind, konnte mir selbstverständlich nicht die gleichzeitige Auffindung anderer Hefearten (z. B. Sacch. cerevisiae, Sacch. ellipsoideus und Sacch. Pastorianus) entgehen; sie bieten sich selbst dar, und als ich den Kreislauf des Sach. apiculatus ausfindig gemacht hatte, kam ich ganz natürlich auch auf die Idee, daß die anderen Hefearten wohl einen ähnlichen Kreislauf wie Sacch. apiculatus haben dürften. Daß die Erde ein Ueberwinterungsort auch für die letztgenannten Arten ist, konnte ich schon damals mit Sicherheit angeben, aber nicht, ob er der einzige oder der normale ist. Es ist leicht, in den Analysen der Erdproben auch diese Hefezellen zu beobachten, wir sind aber heutigen Tags noch nicht imstande, wie es der Fall mit Sacch. apiculatus ist, eine bestimmte Art der genannten so überaus reichen Gruppen auf ihren Wegen in der freien Natur zu verfolgen. Diejenigen Zellen, welche wir in diesen Analysen z. B. als Sacch. ellipsoideus bezeichnen, können sehr gut zu verschiedenen Arten gehören; die Verhältnisse sind also hier ganz anders als in Betreff des Sacch. apiculatus. Es wurde in diesen Versuchen deshalb eben von besonderer Wichtigkeit, Aussaatversuche anzustellen. Nur dadurch sind wir im stande, zu entscheiden, ob eine bestimmte Art an gegebener Stelle in der freien Natur während eines bestimmten Zeitraumes im lebenden Zustande sich aufhalten kann oder nicht. Dies war dann auch die Ursache, daß ich in den Versuchen mit den Arten Sacch. cerevisiae, Sacch. ellipsoideus, Sacch. Pastorianus ein besonderes Gewicht auf die Blumentopfversuche legen mußte. Auf diese Weise arbeitet man unter denselben Verhältnissen, wie sie sich in der Natur vorfinden. Die in meinen Abhandlungen von den Jahren 1881 und 1882 beschriebenen Versuche zeigen auch, daß dieses Verfahren ein gutes ist, wenn der Versuch nicht über 1 Jahr hindurch fortgesetzt werden soll; soll er dagegen mehrere Jahre dauern, dann sind Tonröhren, z. B. Chamberland-Röhren, in Anwendung zu bringen. Indem das Resultat der genannten Blumentopfversuche dasjenige wurde, daß die ausgesäten Zellen von Sacch. cerevisiae, Sacch. ellipsoideus und Sacch. Pastorianus sich in der Erde von Herbst zu Herbst am Leben hielten, konnte man doch noch nicht daraus folgern, daß sie denselben Kreislauf wie Sacch. apiculatus haben. Es kamen noch dazu am Anfange meiner Untersuchungen einige Beobachtungen, wie die von mir oben berührten, nämlich daß wir in der Erde unter den Weinreben, den Fruchtsträuchern und den Obstbäumen gelegentlich weniger Hefezellen als in der Erde der Felder finden können, und außerdem noch andere Verhältnisse, welche nicht ganz für meine Theorie paßten. Ich habe auf diese Schwierigkeiten mehrmals in meinen Abhandlungen

hingedeutet, wenn ich hervorhob, daß noch neue Untersuchungen erforderlich wären. In der Regel hat man meine Aeußerung nicht verstanden und ich bin deshalb hier wieder darauf gekommen. Verwickelte Studien von neuen Gesichtspunkten und Analysen zu Hunderten sind in der Tat auch notwendig gewesen, um Aufklärung zu bringen.

Müller-Thurgau hat im Jahre 1889 eine Untersuchung über das Auftreten des Weinhefepilzes in der Erde veröffentlicht. Die Ursache, warum er keine Aussaatversuche unternahm, war diejenige, daß er keine Frage rücksichtlich des Kreislaufes stellte; er wollte nur untersuchen, ob in der Erde eines Weinberges bei Geisenheim zu den verschiedenen Jahreszeiten sich Hefezellen fanden, welche als zu dem Weinhefepilz gehörig angesehen werden konnten. In Uebereinstimmung mit meinen oben erwähnten Untersuchungen aus der Umgegend von Kopenhagen fand er, daß dies der Fall ist. Müller-Thurgau unternahm auch Untersuchungen über die Tiefe, bis zu welcher die Hefezellen in lebendigem Zustande in der Erde gefunden werden können; er ist der erste, welcher Beiträge in dieser Richtung hin gegeben hat.

Dieses letztere hat Heinze in seiner kleinen geschichtlichen Darstellung von der Kreislauffrage übersehen. Da er die wichtigste Literatur aufgeführt hat, werde ich mich bei dieser Gelegenheit auf eine Hinweisung darauf beschränken können. In meiner späteren ausführlichen Abhandlung wird Rechenschaft davon, sowie von den anderen im Vorhergehenden gedachten Fragen abgelegt werden.

Carlsberg Laborat. Kopenhagen, April 1905.

Sur quelques levures non inversives.

Par **Henri Van Laer,**

Directeur de l'Institut supérieur de brasserie de Gand, professeur à l'Ecole des mines et faculté polytechnique de la Province du Hainaut.

Les „Saccharomycetes" et les organismes voisins (Torulas) dépourvus de sucrase sont peu nombreux relativement aux espèces des mêmes groupes capables d'intervertir le saccharose. Ils sont décrits dans tous les ouvrages classiques relatifs aux champignons ou aux levures.

Plusieurs botanistes continuent à échafauder sur la présence ou l'absence de sucrase, une classification de ces êtres en Saccharomyces inversifs et non-inversifs, Torulas inversives et non-inversives etc. On s'est cependant aperçu depuis quelques années que les saccharomycetes et les espèces asporogènes voisines sont des organismes à propriétés excessivement variables et que les caractères sur lesquels on avait cru fonder des distinctions très nettes, ne restent fixes que dans des conditions d'existence assez étroites.

On conçoit, à priori, que si des manifestations vitales aussi importantes que la sporulation, disparaissent parfois d'une façon définitive, une sécrétion diastasique doit être autrement incertaine et contingente. Elle est en effet avant tout commandée par des conditions de nutrition et dans le cas où celles-ci conviennent à la production d'une enzyme

déterminée, la sécrétion peut rester intérieure et ne pas dépasser la paroi cellulaire.

Dès 1887 Duclaux[1]) en ensemençant sa mycolevure sur un liquide Raulin préparé avec du saccharose, mais sans acide, et stérilisé de sorte qu'il n' yait pas la moindre trace de sucre interverti produit, a constaté que la semence reste inerte à la surface; mais si dans le liquide, on introduit la moindre trace d'un acide quelconque, le développement de la mycolevure se produit avec une vitesse de consommation du saccharose bien supérieure à la vitesse très minime d'interversion du sucre que peut produire la trace d'acide ajoutée.

Fernbach en 1890[2]) et Hess en 1897[3]) ont vu que la nature de l'aliment azoté influe notablement sur la production de la sucrase.

Enfin en 1899, Dubourg[4]) a élargi cette notion en montrant que des levures non-inversives, cultivées dans un liquide très riche en matières azotées (eau de levure à 25 %) additionné de 5 % de glucose et 5 % de saccharose, consomment non seulement le dextrose, mais aussi la plus grande partie du saccharose, le sucre restant étant complètement interverti. Dans ce travail, l'auteur établit que l'attaque du saccharose ne pouvait être attribué à un phénomène d'entraînement du sucre infermentescible dans le mouvement de décomposition du sucre fermentescible.

J'ai d'ailleurs montré en 1896[5]), que des Torulas incapables de décomposer le maltose et le saccharose sont aussi incapables de faire fermenter ces disaccharides par entraînement.

Dans une monographie relative au Mycoderma cerevesiae, j'ai signalé certaines particularités présentées par cet organisme dans ses rapports avec le maltose et le saccharose en solution dans l'eau de levure. Tantôt on le voit consommer ces sucres, tantôt les laisser intacts, sans qu'il soit possible de rechercher la cause de ces variations autre part que dans la valeur nutritive différente des eaux de levure utilisées pour la préparation des milieux de culture.

Toutes les expériences effectuées pour trouver la sucrase, soit dans le liquide de macération des cellules en présence du chloroforme, soit dans les cellules tuées par un mélange d'alcool et d'éther, avaient donné des résultats négatifs. En vérité, ceux-ci ne permettent pas de conclure à l'absence absolue de sucrase, quoique des levures traitées de la même façon se fussent montrées parfaitement actives vis-à-vis du saccharose. Les propriétés osmotiques des membranes des cellules mycodermiques, tuées par le procédé d'Albert, pouvaient ne pas être suffisamment modifiées pour permettre le passage de l'invertine. Si, comme c'est probable, les phénomènes de combustion effectués par les mycodermes sont produits par des oxydases, il reste à savoir si le saccharose dont on constate la disparition, est interverti avant d'être brulé, soit que l'oxydation porte directement sur le dextrose et le levulose, soit qu'elle soit précédée du dédoublement de ces monosaccharides en acide lactique ou en alcool, ou de l'utilisation d'une portion de ces composés par des synthèses cellulaires.

---

1) Microbiologie. Encyclopédie chimique de Frémy.
2) Annales de l'Institut Pasteur.
3) Dissertation Erlangen 1897.
4) Comptes rendus. Février 1899.
5) Bulletin de l'association belge des chimistes. T. IX.

Chez des êtres aussi aérobies que les mycodermes, le pouvoir oxydant mesuré en dernière analyse par la quantité de sucre brûlé ou consommé dans l'unité de temps, peut être plus grand que le pouvoir inversif, de sorte qu'il ne sera pas possible de déceler, à aucun moment la présence de sucre interverti dans la liqueur. De même que chez les levures à faible pouvoir inversif, c'est-à-dire n'intervertissant que peu de saccharose en un temps donné, il n'est pas possible de constater l'accumulation de sucre interverti dans la culture, si les cellules sont riches en zymase, de même chez le mycoderme l'absence des produits de l'inversion du saccharose, ne permet pas de préjuger de l'absence de toute sucrase dans les cellules.

Il est possible qu'en opérant avec d'autres organismes non-inversifs sans action sur le saccharose, mais moins aérobies que les M. cerevesiae, on en trouve qui, dans certaines eaux de levure saccharosées, accusent non seulement une production de sucre interverti dans le liquide, mais aussi la présence de sucrase dans les cellules.

Dans le courant de 1904, j'ai reçu de mon ami le Dr. Lindner, quatre espèces non-inversives me paraissant parfaitement convenir à l'étude de la question. Ce sont: le S. hyalosporus, le S. farinosus, le S. anomalus var. belq. et la Torula pulcherrima, de la collection de l'Institut für Gärungsgewerbe de Berlin. Les trois premières qu'il vaut mieux suivant la nouvelle systématique de Hansen désigner sous les noms de Pichia hyalosporus, Pichia farinosus et Willia anomalus, quoiqu' appartenant à la famille des saccharomycetes, se rapprochent du M. cerevisiae par la propriété de former immédiatement, dans les milieux nutritifs sucrés, un voile qui ne se produit qu'en présence de l'air et se distingue nettement du voile des espèces des autres genres de la famille. La Torula pulcherrima se comporte comme les saccharomycetes à ce point de vue.

En même temps que ces quatre espèces non-inversives, j'ai examiné le S. apiculatus et une levure que se dois à l'obligeance de M. Jörgensen.

C'est la levure I. B. de la collection de Copenhague.

Voici parmi les expériences ausquelles j'ai procédé sur ces organismes, celles qui sont les plus intéressantes:

Expérience 1.

Du moût de malt pur, non houblonné additionné de 5 °/₀ de saccharose, a été réparti entre 7 flacons par portions de 200 c. c. Après stérilisation, ces liquides ont été ensemencés avec une quantité impondérable des six levures non-inversives. Le 7ᵉ flacon a été conservé comme témoin.

A bout de 5 semaines, tous les flacons ensemencés accusèrent une reproduction cellulaire notable. Les liquides ont alors été filtrés et polarisés dans les mêmes conditions.

Voici les chiffres trouvés:

No.		
1	Témoin	35
2	Torula pulcherrima	35
3	S. apiculatus	34,3
4	P. farinosus	34,3
5	P. hyalosporus	34,2
6	W. anomalus Var. belg.	34,3
7	Levure 1. B.	13,4

Les portions de moûts restantes ont été soumises à l'inversion chlorhydrique dans des conditions identiques.

Après inversion, les liquides 1 à 6, accusaient une polarisation de 19,2. Seule la liqueur dans laquelle s'était développée la levure I. B. polarisait + 5 (tube de 100 mm). Celle-ci avait interverti une partie du saccharose mis à sa disposition; les autres levures n'y avaient pas touché.

Expérience 2.

Six flacons contenant de l'eau de levure à 10 % de saccharose, exactement neutralisée par du carbonate de soude, ont été ensemencés avec une quantité impondérable des levures non-inversives; un septième a reçu un peu de levure Frohberg pure, un huitième a été conservé comme témoin.

Au bout d'un mois, toutes les liqueurs ont été polarisées. Celles dans lesquelles avaient vécu le S. apiculatus, le P. farinosus, le W. anomalus, la Torula pulcherrima, marquaient la même polarisation que le témoin soit 19,2 au tube de 100 millim.; la levure Frohberg ayant interverti le saccharose et procédé à la fermentation d'une partie des produits de l'hydrolise, accusait une chûte de pouvoir rotatoire de 19,2 à 1,2.

Les liqueurs sucrées dans lesquelles avaient vecu la levure I. B. et le P. hyalosporus ne polarisaient plus que 17,2.

Expérience 3.

Pour savoir si cette légère diminution du pouvoir rotatoire, chez la levure I. B. et le P. hyalosporus, provenait d'une disparition partielle du saccharose ou d'une consommation de matériaux actifs de l'eau de levure, l'expérience précédente a été refaite avec la même eau de levure non neutralisée.

Dix-sept jours après l'ensemencement, on a relevé, pour la levure I. B. et le P. hyalosporus, une diminution dans la polarisation des liquides dans lesquels ces organismes s'étaient développés.

Les liqueurs ont été soumises alors à l'inversion chlorhydrique dans les mêmes conditions. Toutes celles qui provenaient des levures non-inversives accusaient la même polarisation que le témoin. Le saccharose n'avait donc pas été attaqué quoiqu'il y ait eu developpement aux dépens des matériaux de l'eau de levure. Les mêmes liquides étaient du reste aussi exempts d'alcool.

Expérience 4.

Les cellules produites dans l'expérience précédente, convenablement lavées, ont été mises en digestion pendant 24 heures avec 100 c. c. d'une solution de saccharose et 10 c. c. de chloroforme.

Un premier flacon d'eau sucrée, témoin, avait aussi reçu 10 c. c. de chloroforme; un second témoin avait été additionné en outre de quelques grammes d'une levure commerciale.

Des prises d'essais, filtrées et polarisées après la digestion ont donné +15 pour le premier témoin et toutes les levures non-invertives et —5 pour la levure industrielle.

La levure I. B. était donc dans ces conditions de culture une levure non-inversive, alors que dans l'infusion de malt saccharosée, elle était inversive.

Expérience 5.

Un autre eau de levure additionnée de 10 $^{0}/_{0}$ de saccharose, a reçu séparément des traces des six levures non-inversives et d'une levure pure inversive. Voici les polarisations relevées sur les prises d'essais prélevées après développement.

	Après 20 jours	Après 27 jours	Observations
Témoin	+ 18,5	+ 18,5	
S. apiculatus	+ 18,5	+ 18,5	pas de voile
Torula pulcherrima	— 1,8	— 1,3	
P. farinosus	— 6,4	— 5,6	voile plus
P. hyalosporus	— 5,8	— 6	ou moins
W. anomalus Var. belg.	— 6,5	— 5	accentués
Levure I. B.	— 6	— 5,2	
Levure pure inversive	+ 1,6	+ 1,6	pas de voile

Nous constatons donc ici une inversion du saccharose, suivie de consommation plus ou moins importante des produits de l'inversion, chez les levures qui se rapprochent des M. cerevisiae par la propriété de former immédiatement un voile dans les liquides nutritifs sucrés. Mais alors que chez le mycoderme, nous n'avons pu que reconnaître la disparition du saccharose sans assister à la phase préalable de l'inversion, celle-ci est ici bien nette. Il reste à voir, si nous allons trouver de la sucrase chez ces levures devenues inversives.

Expérience 6.

Les dépots et les voiles des cultures de l'expérience No. 5, lavés sur un filtre, ont été comme dans l'expérience No. 4, mis en contact avec une solution de saccharose additionnée de chloroforme; seulement, pour donner à la sucrase le temps de diffuser, on a laissé la macération s'effectuer pendant 3 semaines. Au bout de 15 jours, on a déjà procédé à une première polarisation; une seconde a été opérée à la fin de l'expérience. Voici les chiffres trouvés.

En même temps, on avait mis en macération dans les mêmes conditions, un peu de levure Frohberg.

	Après 15 jours	Après 3 semaines
Témoin (eau sucrée et chloroforme)	19	19
S. apiculatus	19	19,1
Torula pulcherrima	+ 8,8	— 0,4
P. farinosus	+ 8,8	+ 2
P. hyalosporus	?	— 2,4?
W. anomalus (Var. belg.)	+ 10	+ 2,8
Levure I. B.	+ 1,2	— 0,4
Levure pure inversive	— 5,5	— 6
Levure Frohberg	?	— 6,1

Le signe ? indique que la polarisation à cause du trouble du liquide, était incertaine.

On voit que dans les conditions de ces expériences, le S. apiculatus seul, levure du reste très différente à tous les points de vue des autres organismes non-inversifs étudiés, reste insensible à l'égard du saccharose et parait absolument dénué de sucrase.

Les eaux de levure employées précédemment avaient une acidité

correspondant à 2,5 de NaOH $\frac{N}{10}$ pour 10 c. c. de liqueur. Le cas du S. apiculatus exclut l'hypothèse d'une intervention de cette acidité dans l'hydrolise du saccharose, constatée dans l'expérience No. 5. L'expérience suivante dissipe toute espèce de doute à cet égard.

Expérience 7.

16 flacons contenant de l'eau de levure saccharosée à 10 °/₀ ont été divisés en 4 séries, A, B, C, D. Les 4 liquides de la série B ont reçu la même dose d'acide acétique, ceux de la série C la même dose d'acide tartrique, ceux de la série D la même quantité d'acide lactique.

Après stérilisation, les polarisations étaient:

Série A = 20
Série B = 20,2
Série C = 20,2
Série D = 20,2

Un flacon de chaque série a été conservé comme témoin, les trois autres ont été ensemencés separément avec une trace de la levure I. B. du P. farinosus et du W. anomalus.

Après un mois de séjour des cultures à 25° C, on a relevé les polarisations avant inversion, les polarisations après inversion avec de l'acide chlorhydrique et les acidités. Les résultats sont mentionnés dans le tableau suivant:

Séries	Organismes	Polarisation avant inversion	Polarisation après inversion	Acidités	Observations
A	Témoin	20,4	— 4	3,3	
A	Levure I. B.	20,4	— 4	3,3	dépôt
A	P. farinosus	20,4	— 4,1	3,1	voile
A	W. anomalus	20,4	— 4	3,1	voile
B	Témoin	9,1	— 2	11,3	
B	Levure I. B.	9,1	— 2	11,2	dépôt
B	P. farinosus	9	— 2	11,2	dépôt
B	W. anomalus	9,1	— 2,1	11,1	dépôt
C	Témoin	8,8	— 4	9,4	
C	Levure I. B.	8,8	— 4	9,3	dépôt
C	P. farinosus	8,8	— 4,1	9,4	dépôt
C	W. anomalus	8,8	— 4	9	voile
D	Témoin	16,8	— 4	12,4	
D	Levure I. B.	16,8	— 4,1	12,3	dépôt
D	P. farinosus	16,9	— 4	12,5	voile
D	W. anomalus	17	— 4	12	voile

Les polarisations avant inversion des liquides de la série A sont restées invariables, quoique l'acidité fut plus forte que celle à laquelle je faisais allusion tantôt. Mais les chiffres des autres séries établissent en outre que, malgré une inversion du sucre sous l'influence de l'acide, les produits de l'hydrolise du saccharose n'ont pas été consommés par les levures étudiées. Cela provient de ce que le multiplication au détriment du non-sucre de l'eau de levure, procède plus rapidement que l'inversion du sucre par l'acide et de ce que le sucre interverti convient moins aux générations fermées en l'absence du dextrose et de la levulose.

C'est le cas du M. cerevisiae, auquel on donne simultanément du maltose ou du saccharose et de l'alcool et qui ne touche pas au sucre aussi longtemps qu'il a de l'alcool à sa disposition.

Conclusion.

Les levures non-inversives aérobies, chez lesquelles la vie de la „levure végétale" domine, peuvent devenir inversives. Le saccharose utilisé pour leur nutrition hydrocarbonée subit, lorsqu'il est consommé, une inversion préalable. Si celle-ci ne se manifeste pas dans le cas des M. cerevisiae, c'est probablement parce que le pouvoir oxydant qui est indépendant du „pouvoir inversif", puisqu'il est l'œuvre de diastases différentes, a une valeur plus grande que le second.

Versuche über Mucorineengärung.

Von C. Wehmer.

Mit 3 Figuren.

An vorliegende Untersuchung trat ich ursprünglich mit einer von der im späteren Verlauf verfolgten ganz verschiedenen Fragestellung heran. Ich wollte ursprünglich ermitteln, ob Mucor racemosus, bei Luftzutritt in gärfähigen Lösungen kultiviert, etwa deshalb keinen Alkohol — das ist ja die heutige Annahme — bilde, weil er denselben sogleich wieder zerstöre (oxydiere) und hatte die ersten auf den Nachweis dieser Alkoholzersetzung abzielenden Experimente kaum abgeschlossen, als sich die Frage auf Grund anderer Versuche überhaupt als überflüssig erwies; es ergab sich nämlich, daß der Pilz bei vollem Luftgenuß gerade so gut und ungefähr ebenso viel Alkohol erzeugt als bei behindertem Sauerstoffzutritt. Die heutige Meinung ist hiernach also nicht zutreffend und ich unternahm nunmehr die Aufgabe, dies genauer nachzuweisen.

Gleichzeitig habe ich die Beziehung der Gärung zur Kugelhefebildung verfolgt, einer bekanntlich schon oft diskutierten und im Sinne einer kausalen Verbindung beider entschiedenen Frage. Auch hier sind meine Resultate abweichend; ebenso wenig wie an den Luftabschluß ist die Gärtätigkeit des M. racemosus an seine oft genannte „Kugelhefe" gebunden. Eine Auseinandersetzung mit früheren Forschern auf später verschiebend, teile ich zunächst einfach meine Versuche mit, die gleichzeitig auf eine andere Mucor-Art (M. javanicus) ausgedehnt wurden [1].

Auf die morphologischen Merkmale meines M. racemosus, den ich der Freundlichkeit des Herrn Prof. Dr. E. Chr. Hansen verdanke, ist unten noch einzugehen, ich bemerke im voraus, daß er mit den Diagnosen befriedigend übereinstimmt.

Drei Versuche über Zersetzung alkoholischer Flüssigkeiten durch beide Pilze seien vorausgeschickt.

I. Zersetzung von Alkohol durch Mucor racemosus und M. javanicus.

Gewöhnliche Kulturen in Alkohol unter Zusatz von Mineralsalzen und etwas Würze.

---

1) Eine vorläufige kurze Mitteilung s. in Ber. Botan. Ges. 1905. Heft 3.

Versuchsbedingungen. Zusammensetzung der Nährlösung: 200 ccm Wasser, 0,44 g Nährsalzgemisch (Ammonnitrat 1, Kaliumphosphat 0,5, Magnesiumsulfat 0,25 Teile), 6 ccm Alkohol von 96 Proz. (2,875 Proz. ca.). Der Alkoholzusatz fand nach Sterilisieren im Dampftopf und Erkaltenlassen statt; gewöhnlicher Watteverschluß des Glaskolbens. Geimpft mit linsengroßer Flocke aus Reinkultur; Versuchsdauer rund 50 Tage; Temperatur ± 13°. 3 Versuche mit M. javanicus und M. racemosus in gewöhnlichen Kolben von 300 ccm Vol.

Verlauf. Da nach 8 Tagen noch keinerlei Entwickelung zu konstatieren war, wurde vorsichtig je 1 ccm steriler verdünnter Würze zugesetzt. Allmählich begann jetzt ein träges Wachstum, es entstanden kleine sich sehr langsam vergrößernde Mycelien, die zunächst nur den Boden der Flüssigkeit bedeckten, um dann gegen die Oberfläche hin emporzuwachsen. Diese wurde nur von M. javanicus erreicht, M. racemosus erreichte kaum die halbe Höhe und schien dann still zu stehen. M. javanicus erfüllte nach ca. 40 Tagen die ganze Flüssigkeit mit hellem lockeren Mycel und trieb dann eine Zahl sehr kleiner, alsbald umsinkender Sporangienträger. Die Vegetationen beider Pilze machten einen durchaus dürftigen Eindruck, die Ernährung war offenkundig eine sehr kümmerliche.

Resultat. Bei der Verarbeitung ergab sich folgendes:

Versuch 1. M. racemosus.

Das abfiltrierte, schneeweiße, schleimig-voluminöse Mycel wies mikroskopisch zahlreiche Gemmen auf (kugelig, oval, mehr oder weniger angeschwollen, farblos), Hyphen wie Gemmen oft mit farblosen Fetttröpfchen, der Plasmagehalt der Hyphen ist gering, vorwiegend hat es sich in die Gemmen gezogen. Septierte Hyphen und Kugelzellen fehlen. Fremdorganismen sind nicht vorhanden. Reaktion der Kulturflüssigkeit (203 ccm) fast neutral, Lackmus wird langsam schwach rötlich, geruchlos. Das Destillat (160 ccm) gleichfalls geruchlos, gegen rotes wie blaues Lackmuspapier neutral; spezifisches Gewicht des aufgefüllten Destillats 0,9974 entsprechend 1,75 Vol.-Proz. Alkohol. Destillationsrückstand Lackmus deutlich rötend. Gewicht des getrockneten gelblich-grauen Mycels = 0,015 g[1]).

Versuch 2. M. javanicus.

Das voluminöse, schlüpfrige Mycel gelblich, mikroskopisch aus reich verzweigten Mycelien mit seltener Gemmenbildung bestehend, Septenbildung und Kugelzellen fehlen ganz. Sporangienträger wenig regelmäßig verzweigt, zart, mit kugliger Columella, leicht zerfließlicher Sporangienwand, doch ohne Sporen; der Sporangieninhalt besteht vielmehr aus dichtgedrängt liegenden Körnchenmassen von kaum 1 μ Durchmesser und ziemlich regelmäßiger Kugelform, kleinen Kokken und „Diplokokken" täuschend ähnlich; nach Zerfließen der Wand haften sie zu leicht gelblichen derben Massen zusammen. Im Mycel selbst dieselben „Körnchen" in großer Zahl im Plasma liegend; näherer Verfolg fand jedoch nicht statt.

Kulturflüssigkeit von schwachem, angenehmem Geruch (obstartig), wie er auch sonst bei Mucorineenkulturen auftritt. Reaktion: blaues Lackmus kaum verändernd, nach längerer Zeit sehr schwach rötend.

1) Ueber Bestimmung von Pilzsubstanz, Alkohol u. a. siehe unter II. weiter unten.

Das Destillat hat einen kaum merklichen Ammoniakgeruch und bläut Lackmuspapier schwach (Fehlerquelle!). Spezifisches Gewicht ca. 0,9976 = 1,61 Vol.-Proz. Alkohol. Destillationsrückstand rötet blaues Lackmus deutlich.

Gewicht des gelblichen Mycels (Trockensubstanz) = 0,060 g.

Versuch 3. M. racemosus.

Unter etwas abweichenden Versuchsbedingungen. Statt 6 ccm rund 10 ccm Alkohol (96-proz.), also genau 4,792 Proz., auch von vornherein zur Aufbesserung der Nährfähigkeit der Lösung Würzezusatz (20 ccm verdünnt) statt Mineralsalzlösung. Volumen 200 ccm, Erlenmeyer-Kolben, Watteverschluß u. a., wie vorher. Einsaat eines voluminösen Mycels (ganzes Mycel eines kleineren Kolbens) von ca. halber Daumengröße. Versuchsdauer rund 3 Monate (genau 89 Tage).

Verlauf. In den ersten Wochen fand keine Entwickelung statt, offenbar reicht der Alkoholgehalt von kaum 5 Proz. aus, um zunächst jedes Wachstum zu unterdrücken, aber keineswegs, wie die Folge zeigte, zum Abtöten. Die grauweiße Mycelmasse lag wochenlang am Boden der Flüssigkeit, ohne an Volumen zuzunehmen, dann erst begann eine sehr träge Vergrößerung, indem sie sich mit einem neuen Hof ausstrahlender Hyphen umgab. Auch nach 8 Wochen war der Zuwachs unbedeutend, die Hyphen erreichten bei weitem nicht die Oberfläche. Nach rund 12 Wochen war das den halben Kolbeninhalt ausfüllende graue Mycel bis auf 2—3 mm der Oberfläche nahe gekommen und der Versuch wurde verarbeitet.

Resultat: Gesamtvolumen jetzt 190 ccm. Reaktion: blaues wie rotes Lackmuspapier unverändert, sehr schwacher, angenehmer Geruch, wasserklar; mikroskopisch rein, ausschließlich Mucormycel, mit sehr vereinzelten Gemmen, ohne Septen oder Kugelzellen; Hyphen jedoch sehr inhaltsarm, ohne Fetttropfen, auch von eigenartigem Aussehen, oft hin- und hergebogen und vielfach mit unregelmäßigen Anschwellungen; nur die feinsten Ausläufer mit normalem Plasma, in den dickeren Fäden das Plasma immer als glänzende Kugel; ersichtlicher Hungerzustand. Beim Trocknen geht die voluminöse Masse auf einen kleinen grauen Rest zusammen (0,065 g Trockengewicht).

Spezifisches Gewicht des Destillats = 0,9953, entsprechend 3,21 Vol.-Proz. Alkohol (2,55 g in 100 ccm), also in 190 ccm = 4,845 g, entsprechend 6,099 ccm. Verschwunden sind also 3,401 ccm oder 1,582 Proz. von den 4,79 Proz. Alkohol.

Würzerückstand 0,128 g (als gelblicher, fester Lack.). Zersetzt sind also von der Trockensubstanz der 20 ccm verdünnten Würze (1,370 g) rund 1,492 g.

Ergebnis von Versuch 1—3.

Einen merklichen Nährwert hat hiernach Alkohol unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen (ca. 2,8—4,8 Proz.) für keinen der beiden Pilze, bereits in sehr geringer Konzentration wirkt er wachstumshemmend. Wenigstens findet bei gleichzeitiger Gegenwart von mineralischen Nährsalzen zunächst überhaupt keine Entwickelung statt, und das langsame Wachstum bei Zugabe von Würze ist wohl allein auf deren organische Nährstoffe zurückzuführen. Manche andere Pilze (Aspergillus-, Penicillium-Arten und andere) gedeihen bekanntlich auf Alkohollösungen (3-proz.) mit Mineralsalzen ganz erträglich. zersetzen auch Alkohol lebhaft.

Beide Mucor-Arten vermögen den Alkohol anscheinend auch zu zerstören, voraussichtlich wird er langsam oxydiert. Aber diese Zersetzung ist eine außerordentlich träge, so daß sie erst nach vielen Wochen ins Gewicht fällt.

M. racemosus zersetzte — wobei von kleineren Fehlerquellen abgesehen wird [1] — binnen 50 Tagen von 5,75 ccm rund 2,21 ccm, unversehrt blieben 3,5 ccm. M. javanicus ebenso von 5,75 ccm rund 2,53 ccm, unversehrt blieben hier 3,22 ccm oder in Prozenten der Flüssigkeit wurden zerstört 1,105 Proz. (M. racemosus) bezw. 1,265 Proz. (M. javanicus). In dem 3. Versuch mit höherem Alkoholgehalt zersetzte M. racemosus (bei alleiniger Gegenwart von Würze, ohne Mineralsalze) in rund 12 Wochen von 4,792 Vol.-Proz. = 1,582 Vol.-Proz. bezw. von 9,6 ccm rund 3,501 ccm (Rest 6,099 ccm), dabei verzehrte er jedoch die gesamten anderen Nährstoffe bis auf einen kleinen Rest (1,242 g von 1,370 g Würzesubstanz).

Ich will aber ausdrücklich offen lassen, ob diese hier angenommene, aus der Abnahme gefolgerte Alkoholzerstörung nicht lediglich auf Kosten der Verdunstung zu setzen ist; diese Frage soll erst durch die weiter unten mitzuteilenden Kontrollversuche zu erledigen versucht werden.

Die Tatsache der schweren Zersetzbarkeit des Aethylalkohols durch unsere Mucor-Arten erklärt immerhin die schnelle Ansammlung desselben auch in wenigtägigen Gärversuchen (schon nach 7—10 Tagen erzeugt M. javanicus ca. 4—5 Proz.), sowie die Beobachtung, daß selbst monatelange Gärungen noch fast die gleichen Alkoholzahlen liefern. Andererseits wäre die tatsächliche Zersetzbarkeit jedoch für die Beurteilung alter Gärversuche, zumal bei vollem Luftzutritt, nicht außer Acht zu lassen; wie ausdrücklich hervorgehoben werden muß, lag in unseren Versuchen nur ein sehr kümmerliches, submers wachsendes Mycel (Trockensubstanz 0,015 g, 0,060 g und 0,065 g) vor; falls die Wirkung entsprechend dem Pilzgewicht wächst, so wäre die Beurteilung von Gärversuchen allerdings eine etwas andere, die Alkoholansammlung entspräche dann der Differenz zwischen zersetztem und neugebildetem Alkohol, wie es ähnlich für die Oxalsäure bei Aspergillus niger gilt.

Bemerkenswert ist noch die ausgesprochene wachstumshemmende Wirkung von weniger als 3 Proz. Alkohol auf beide Pilze, 4,8 Proz. unterdrückten die Entwickelung von M. racemosus sogar für Wochen, keineswegs wirkten sie aber tödlich [2], es fand vielmehr eine langsame Gewöhnung an die zunächst hinderliche Alkoholkonzentration statt. Eine Kugelzellbildung findet dabei nirgends statt, sie ist also auch wohl sonst nicht eine Folge des sich ansammelnden Alkohols.

II. Sauerstoffeinfluß auf Gärung und Kugelhefebildung.

Die beiden Pilze wurden sowohl bei vollem wie bei mehr oder weniger behindertem Luftzutritt kultiviert und dabei folgende Arten der Versuchsanordnung gewählt:

1) Kolben mit gewöhnlichem Watteverschluß, ungefähr zur Hälfte mit Würze gefüllt; hier findet Wachstum der Mucor-

1) Kontrollversuch: 50 ccm des benutzten Alkohols wurden auf 1500 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt; das spezifische Gewicht, mit Mohrscher Wage bestimmt, war jetzt: 0,9950 (15°) = 3,42 Proz., berechnet 3,2 Proz.

2) Früher von Fitz angegeben. (Ber. Chem. Ges. Bd. VI. 1873. p. 54.)

Arten ganz vorwiegend als von Flüssigkeit durchtränkte voluminöse Decke an der Oberfläche statt, sehr untergeordnet als Mycelflocken und Kugelhefe in tieferen Schichten bezw. am Boden. Gärungserscheinungen träge.

2) Kolben mit Gärverschluß, ca. $^4/_5$—$^5/_6$ mit Würze gefüllt, so daß nach Verzehr des Sauerstoffs alsbald Mangel daran eintritt. M. javanicus wächst hier vorzugsweise, M. racemosus nur teilweise als Kugelhefe, die allmählich aus dem Zerfall des zunächst entstehenden voluminösen Mycels hervorgeht. Gärung deutlich bis stark.

3) Kolben mit kontinuierlicher Luftdurchleitung, zur Hälfte mit Würze gefüllt; der Luftstrom passiert die Flüssigkeit 1—2 cm unterhalb des Niveaus, schließt also Luftmangel und Kohlensäureansammlung aus. Die beiden Pilze wachsen hier als voluminöses, die gesamte Würze gleichmäßig durchsetzendes Mycel (ohne Deckenentwickelung). Gärungserscheinungen fehlen, nur sparsam und gelegentlich kleine Gasblasen zwischen den Hyphenmassen.

4) Weite Doppelschalen (18—25 cm Durchmesser), mit wenige Millimeter hoher Würzeschicht gefüllt. Beide Pilze füllen hier binnen kurzem die gesamte Flüssigkeit mit einem großen zusammenhängenden Mycel aus. Gärungserscheinungen fehlen.

Bei der nach 1—5 Wochen stattfindenden Verarbeitung der Kulturen wurde zunächst der Alkoholgehalt der vom Mycel abfiltrierten Würze durch Destillation ermittelt, die Pilzernte als Trockensubstanz bestimmt, und schließlich durch Einengen des Destillationsrückstandes samt der Waschwässer der unzersetzte Würzerest zu ermitteln versucht, um so genauere Beziehungen zwischen Zuckerverbrauch, Pilzgewicht und Alkoholbildung unter den verschiedenen Bedingungen festzulegen. Für meinen Zweck erwies sich die Mohrsche Wage zur Gewichtsbestimmung des Destillats als hinreichend genau, minder befriedigend erscheinen die Resultate der Würzerückstandsbestimmung, selbst tagelanges Eintrocknen auf dem Wasserbade ergibt bei diesen syrupösen Massen oft kein konstantes Gewicht, so daß die Zahlen, zumal bei größeren Mengen, nur annähernd dem wasserfreien Rückstand entsprechen, immerhin aber für Vergleiche brauchbar sind. Der feste, lackartige Rückstand verfärbt sich dabei ins braunschwarze [1]). Die Pilzmasse wurde vor dem Trocknen (30—40°) ca. 4—5mal gut ausgewaschen, nachdem sie auf trockenem Filter von der Flüssigkeit abgetrennt war (in der Regel ohne auszupressen). Letztere wurde in üblicher Weise zu $^3/_4$—$^4/_5$ abdestilliert und vom Destillat nach Wiederauffüllen das spezifische Gewicht ermittelt [2]).

Durch mikroskopische Untersuchung vor der Verarbeitung wurde in jedem Falle nach etwaiger Infektion, die ja gewöhnlich schon dem bloßen Auge sichtbar ist, gesucht, auch An- oder Abwesenheit von Gemmen, Kugelzellen und anderes festgestellt. Uebrigens wurde Verunreinigung durch Hefen in keinem Falle, durch Bakterien in nur zwei Fällen (B. fluorescens, B. Güntheri) konstatiert, die Gefahr einer Infektion ist bei richtigem Arbeiten also nicht groß, trotzdem gerade Bierwürze ein etwas schwierigeres Substrat ist.

---

1) Das findet zumal bei M. javanicus unter Einfluß der vorhandenen fixen organischen Säure statt. Empfehlenswerter als diese zeitraubende und nur annähernde Zahlen liefernde Methode ist jedenfalls auch hier die Ermittelung des spezifischen Gewichts der entgeisteten Flüssigkeit.

2) Alkoholzahlen nach den Tabellen von Windisch. Berlin 1893.

Genaueres über die Versuchsbedingungen ist noch unten vermerkt. Alle Gefäße standen (ebenso wie die früheren unter I) in einem hellen, ± 13° (10—16°) zeigenden Zimmer. Einhaltung konstanter Temperatur erlaubte der (nur Tags) durch Dampfheizung erwärmte Raum nicht, die Benutzung eines Thermostaten war wenigstens bei der Größe der Doppelschalen und durch die Verwendung der Saugpumpe zum Luftdurchleiten ausgeschlossen. Die benutzte Würze (15—16° Balling), von der Herrenhäuser Brauerei freundlichst überlassen, wurde zunächst nur verdünnt, späterhin aber überall gleichmäßig ohne Verdünnung verwendet; das ist jedoch nur für den energischer wirkenden M. javanicus empfehlenswert.

Eine gewisse Schwierigkeit in der Deutung des erhaltenen Resultats liegt bei den großen Doppelschalen insofern vor, als hier mit einer allmählichen Verdunstung von Wasser und Alkohol zu rechnen ist; zumal bei mehrwöchiger Versuchsdauer erreicht die Volumenverminderung beträchtliche Werte. Meine einstweilige Annahme, daß beide in gleichem Maße sich vermindern, ist offenbar mit einem gewissen Fehler behaftet, dessen annähernde Größe durch Kontrollversuche festzustellen gesucht wurde (s. bei M. javanicus weiter unten).

A. Versuche mit Mucor racemosus.

1. Versuchsreihe.

Brauereiwürze im Verhältnisse von 420 auf 1200 ccm verdünnt. Als Kulturgefäße gewöhnliche Glaskolben (400 ccm Vol.), ca. zur Hälfte mit je 200 ccm Würze gefüllt. Aussaat ca. linsengroße Mycelflocke derselben Reinkultur aus verdünnter Würze. Watte- oder Gärverschluß. Sterilisierung im Dampfcylinder. Impfung am 24. Dez. 1904.

Verlauf: 3 Tage nach der Impfung in allen Kolben voluminöse, vom Boden aus emporwachsende und die halbe Flüssigkeit ausfüllende Mycelmasse. Weiterhin dann merkliche Unterschiede zwischen den Versuchen, je nach Bedingung.

Versuch 1. Kolbenverschluß durch üblichen bakteriologischen Wattepfropfen.

Das Mycel steigt nach einigen Tagen an die Oberfläche und entwickelt sich fast ausschließlich als ziemlich kompakte grauweiße Decke, die aber (wie stets bei Mucorineen) von Flüssigkeit völlig durchtränkt ist, so daß eigentliche Lufthyphen oberhalb des Niveaus, das nur von den Sporangienträgern überschritten wird, nie vorkommen. Gasblasen unterhalb derselben sich ansammelnd, Decke oberflächlich ziemlich glatt, auf der Unterseite in lockere, flottierende Fadenmassen übergehend, solche auch in der Flüssigkeit frei schwimmend, keine auffällige Zerfallserscheinungen, kein Bodensatz von „Kugelhefe", Flüssigkeit dauernd wasserklar. Spärliche, fast mikroskopische Sporangienträger auf der Oberfläche. Versuchsdauer 28 Tage (24. Dezember bis 21. Januar).

Untersuchung: Filtrat der Pilzmasse von schwach angenehmem (apfelartigem) Geruch, blaues Lackmus schwach rötend, klar, mikroskopisch rein. Im Mycel vereinzelt Septen und Kugelzellen, sonst nur gemmenreiche Hyphen.

Alkoholbestimmung: Das Destillat hatte ein spezifisches Gewicht von 0,9963 = 2,51 Vol.-Proz. Alkohol (1,99 g in 100 ccm), von reinem Geruch, neutral, entsprechend 3,98 g vorhandenem Alkohol.

Würzerückstand: 3,683 g Trockensubstanz, verbraucht sind also rund 10,077 g.

Pilzgewicht: 0,456 g Trockensubstanz.

In 22 Tagen sind also aus 10,077 g zersetzten Würzebestandteilen neben 0,456 g Pilztrockensubstanz 3,98 g Alkohol (2,51 Proz.) erzeugt, letzteres so gut wie ausschließlich durch das Mycel.

Versuch 2. Luftabschluß durch Gärverschluß.

Im Beginn vorhandener Luftraum ca. 200 ccm. Versuchsdauer 24 Tage (24. Dezember bis 18. Januar). Auch hier sammelt sich das Mycel alsbald an der Oberfläche („Sauerstoffhunger") und scheidet reichlich Gasblasen ab. Wachstum ziemlich träge, die Gas durchsetzte graue, schleimig-fädige Mycelmasse bildet auf der Oberfläche nur ein größeres Polster (keine vollständige Decke), das lang in die Flüssigkeit flottiert. Keine nennenswerte Bodensatzbildung oder Trübung. In den letzten zwei Wochen entwickelte sich eine schwache (bakterielle) Trübung der Flüssigkeit, die auch Anlaß zum Abbruch des also halb mißlungenen Versuches gab.

Resultat: Filtrat trübe, von schwach säuerlichem Geruch, gegen Lackmus deutlich sauer, mikroskopisch zahlreiche, sehr kurze, unbewegliche Stäbchen (nach Aussehen offenbar Bacterium Güntheri, Milchsäuregärung!), hefenfrei, normales Mycel neben Septenbildung und freien Kugelzellen, auch mit Knospung.

Alkoholbestimmung: Das saure Destillat nochmals über Pottasche destilliert, war jetzt neutral, spezifisches Gewicht 0,9982 = 1,20 Vol. Alkohol (0,96 g in 100 ccm), entsprechend 1,92 g gebildeten Alkohols.

Unzersetzter Würzerückstand = 8,506 g; (Destillationsrückstand stark sauer).

Pilzgewicht = 0,171 g Trockensubstanz.

Der Versuch ist weiter unten wiederholt, trotzdem er nicht einwandsfrei ist, sind die Zahlen wohl teilweise brauchbar, so daß er hier mit aufgeführt wird.

In 25 Tagen sind also aus 5,254 g Würzebestandteilen 0,171 g Pilzsubstanz und 1,92 g Alkohol (1,2 Proz.) erzeugt, gleichfalls vorwiegend durch das Mycel.

Versuch 3. Lüftung durch kontinuierlichen Luftstrom (s. Fig. 1).

Versuchsdauer 29 Tage (24. Dezember bis 23. Januar). Durchsaugen eines kontinuierlichen Luftstromes (ca. 120 Blasen in 1 Minute) mittels Wasserstrahlpumpe, die Luft passiert vorgelegtes Wattefilter und Waschflasche mit verdünnter Natronlauge, alsdann erst eine Flasche steriler Würze, die (als Kontrollkolben) frei von Infektion blieb [1]). Der ganze Apparat wurde vorher wiederholt im Dampf sterilisiert und nach Einsaat auf die zunächst unter Watte sterilisierten Würzekolben vorsichtig aufgesetzt.

Unter Wirkung des Luftstromes ist die Vegetation hier völlig von der in den beiden vorhergehenden Versuchen verschieden, das lebhaft wachsende Mycel sammelt sich nicht an der Oberfläche, sondern

1) Wattefilter und Waschflasche genügen also vollkommen.

erfüllt alsbald gleichmäßig den ganzen Kolbeninhalt als grauweiße, fast kompakt werdende Masse; Gärungserscheinungen fehlen.

Untersuchung: Filtrat fast neutral (Lackmus langsam gerötet), von schwachem, angenehmem Duft (apfelartig), mikroskopisch fehlen Kugelzellen ganz, nur dichtes, unseptiertes Mycel mit reichlich Gemmen, makroskopisch gelblich-grau.

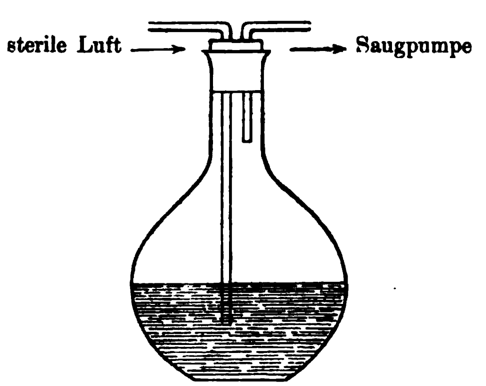


Fig. 1. (ca. 1/3 nat. Gr.)

Alkoholbestimmung: Spezifisches Gewicht des Destillats = 0,9963 = 2,51 Vol.-Proz. Alkohol (1,99 g in 100 ccm), Destillat neutral, geruchlos. Destillationsrückstand kaum blaues Lackmus rötend. Auf Gesamtvolumen berechnet = 3,98 g Alkohol.

Würzerückstand: 1,074 g Trockensubstanz, somit zersetzt ca. 12,686 g.

Pilzgewicht: 0,708 g Trockensubstanz.

In 29 Tagen sind also aus 12,686 g zersetzten Würzebestandteilen neben 0,708 g Pilzsubstanz an Alkohol 3,98 g (2,51 Proz.) erzeugt und zwar ausschließlich durch das Mycel.

Ergebnis der Versuche 1—3.

Kontinuierliches Luftdurchleiten durch die Kulturflüssigkeit hindert die Alkoholbildung durch M. racemosus nicht, sie wird nicht einmal quantitativ beeinträchtigt, obschon sichtbare Gärungserscheinungen fehlen; andererseits werden, wie zu erwarten, Wachstum (Pilzernte) wie Zuckerzersetzung dadurch außerordentlich gefördert. Aus gleichen Würzemengen (je 200 ccm) resultieren:

	Pilzgewicht	Alkohol		Würzerückstand	Zucker-[1] verbrauch	Versuchsdauer
1. Versuch (Watteverschluss)	0,456 g	2,51 Proz.	3,98 g	3,683 g	10,077 g	28 Tage
2. Versuch (Luft abgesperrt)	0,171 „	1,20 „ [2]	1,92 „	8,500 „	5,254 „	24 „
3. Versuch (kontinuierliche Lüftung)	0,708 „	2,51 „	3,98 „	1,074 „	12,686 „	29 „

Im ganzen ergibt sich hiernach:

1) Andauernde Luftzufuhr (Lüftung, Versuch 3) begünstigt Wachstum wie Zuckerzersetzung, schließt „Kugelhefe“-Bildung aus, hindert aber nicht Alkoholbildung.

2) Fehlende Lüftung (Versuch 1) verzögert Wachstum (merklich) und Zuckerzersetzung (minder), hat spärliche Kugelhefebildung zur Folge, bedingt aber keine stärkere Alkoholbildung.

1) 200 ccm der verdünnten Würze enthielten nach einer Bestimmung 13,76 g fester Bestandteile (Trockensubstanz).

3) Luftabschluß[1]) (Versuch 2) drückt Wachstum wie Zuckerzersetzung herab, bewirkt reichlichere Kugelhefebildung; der Einfluß auf die Alkoholbildung mag zunächst offen bleiben (nach einem gut verlaufenen späteren Versuch wird auch nicht mehr Alkohol als sonst gebildet).

2. Versuchsreihe.

Der Versuch mit Absperrung der Luft durch Gärverschluß wurde wiederholt, daneben lief ein Versuch mit Aussaat des Pilzes in niedrige Flüssigkeitsschicht bei großer Oberfläche, wo also Luftmangel so gut wie ausgeschlossen ist. Der Einfluß unbehinderten Luftzutritts auf die Alkoholbildung mußte hier klar hervortreten. Die Versuche blieben tadellos rein.

Die Ergebnisse seien der genaueren Schilderung des Verlaufes der Versuche vorausgeschickt.

1) Der Schalenversuch lieferte einen dichten grau-weißen, 2 bis 3 cm hohen Sporangienrasen, das Mycel erfüllte die ganze Flüssigkeitsschicht ohne sichtbare Gärungserscheinungen (Gasentbindung) hervorzurufen, trotzdem fanden sich auch hier nahezu 2 Proz. Alkohol. Kugelzellen und Sprossungserscheinungen fehlten ganz.

2) Der Kolbenversuch mit Luftabschluß ergab eine wochenlang andauernde langsame Gärung, wobei der Pilz teils als grauweiße, obenschwimmende blasendurchsetzte schleimige Decke (ohne Sporangien), teils — doch untergeordnet — als flockiger Bodensatz (Kugelzellen mit Sprossung) vegetierte. Alkohol etwas über 2 Proz.

Für die Alkoholentstehung überhaupt macht es also keinen Unterschied, ob man bei Luftabschluß oder freiem Luftzutritt kultiviert, in letzterem Falle fehlt aber sichtbare Gasentbindung.

Versuchsdetail.

Versuch 4, mit Gärverschluß.

Erlenmeyer-Kolben von 300 ccm Vol. mit 250 ccm Würze (hier unverdünnt[2]), 15,5° Bllg.), verfügbarer Luftraum also 50 ccm; samt Gärverschluß sterilisiert. Impfung mit erbsengroßer Flocke Reinkultur. Versuchsdauer 38 Tage (10. Febr. bis 20. März).

Verlauf: Erst nach einigen (3) Tagen hat sich ein zunächst submerses größeres, bald an die Oberfläche emporsteigendes Mycel gebildet, das langsam mit Gasentwickelung beginnt, so daß die Kohlensäure blasenweise aus dem Verschluß entweicht; es entwickelt sich allmählich zu einer grauweißen, schleimig-fädigen, gasdurchsetzten Deckenvegetation ohne Sporangienträger und einem Bodensatz. Gasentbindung bleibt andauernd ziemlich träge, beim vorsichtigen Schütteln jedoch starkes Schäumen und lebhaftes CO_2-Ausströmen.

Nach 3—4 Wochen ist die Gärung so langsam geworden, daß nur noch ab und zu eine Luftblase aus dem Verschluß entweicht. Offenkundig ist die Vergärung unvollständig, die wasserklare Würze hat auch nach 6 Wochen noch ihre rotbraune Farbe, auf ihr schwimmt andauernd

1) Dieser Versuch No. 2 durch Infektion getrübt; Wiederholung siehe unten.

2) Die unverdünnte Brauereiwürze hatte in 100 ccm ca. 17,540 g Trockensubstanz, sie entstammte derselben Brauerei, wurde jedoch an einem anderen Tage bezogen als das erste nur verdünnt angewandte Muster (mit 6,88 g Trockensubstanz auf 100 ccm nach Verdünnung). Anfangs hatte ich Bedenken gegen Verwendung der konzentrierten Würze; nachdem die Feststellung gelehrt, daß sie wenigstens für M. javanicus sogar günstiger ist als die verdünnte, wurde sie ausschließlich verwendet.

eine graue schleimig-fädige Decke, von Gasblasen stets emporgehoben; vom schwachen Bodensatz spärliches Aufsteigen kleiner Gasblasen. Schließlich wurde dann verarbeitet.

Resultat. Filtrat schwach lackmusrötend, wasserklar; das graue Deckenpolster ohne Sporangien, aus glashellen Hyphen bestehend, Gemmen fehlen, Septen und Zerfall in Kugelzellen wie früher; der graue Bodensatz besteht aus großen glasigen Kugelzellen mit Sprossungserscheinungen. Alles mikroskopisch rein, weder Hefen noch Bakterien. Geruch angenehm, erfrischend; stark mit Kohlensäure gesättigt. Spezifisches Gewicht des Destillats = 0,9968 = 2,16 Vol.-Proz. Alkohol (1,71 g in 100 ccm), Gesamtalkoholgehalt also 4,275 g. Unzersetzter Würzerest = 34,15 g; zersetzt also 9,7 g; Pilzgewicht = 0,172 g (ca. $^4/_5$ aus Mycel bestehend).

In 38 Tagen wurden also aus 9,7 g zersetztem Zucker neben 0,172 g Pilzgewicht 4,275 g Alkohol (2,16 Proz.) erzeugt, und zwar vorwiegend durch das Mycel.

Versuch 5, Kultur mit großer Oberfläche, freier Luftzutritt.

Kristallisierschale von 20 cm Durchmesser, 6 cm hoch, mit derselben verdünnten Würze wie oben benutzt (200 ccm) [1]) 6—8 mm hoch gefüllt, bedeckt mit weit übergreifender, lose aufliegender größerer Deckelschale (s. Fig. 2). Das Ganze vorsichtig im Dampf sterilisiert. Impfung mit einigen erbsengroßen Flocken Reinkultur. Versuchsdauer 29 Tage (25. Jan.—23. Febr.).

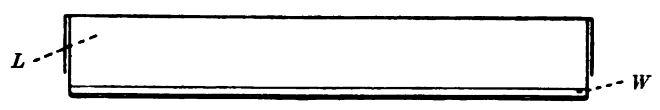


Fig. 2. (ca. $^1/_3$ nat. Gr.) *L* Luftraum, *W* Würze.

Verlauf trotz naheliegender Bedenken hinsichtlich der Infektionsgefahr ausnehmend günstig. Die Entwickelung ging auch hier wieder vom Gefäßboden, nach oben fortschreitend, aus, also keine eigentliche Deckenbildung durch engverflochtene Lufthyphen. Bereits nach 3 Tagen ist der größere Teil und nach 5 Tagen die gesamte Flüssigkeit mit dichtem grauen Pilzmycel durchwachsen, das jetzt am Gefäßrande 1 cm hohe, zarte, grauweiße Sporangienträger entwickelt. Gasblasen werden nirgends beobachtet. Nach 8 Tagen hat sich der Sporangienträgerkranz an der Glaswand höher (2—3 cm) und üppiger entwickelt, zugleich erscheint jetzt auf der freien Oberfläche aus dem submersen Mycel hervorgehend ein dichter Wald kleinerer (1 cm hoher) Träger, sodaß die ganze Schale damit bedeckt ist. Ganz vorwiegend sind die Träger unverzweigt. Unter der Deckelschale heraus dringt ein schwacher obstähnlicher Geruch. Im weiteren Verlauf wächst auch der Sporangienrasen der freien Fläche zu der Höhe von 2—3 cm heran, die ganze Masse ist schließlich mit dichten grauweißen Rasen bedeckt, an dem die Sporangien kaum oder nur soeben für das bloße Auge als graue Punkte hervortreten und dem ganzen einen leicht grauen Ton geben. Nach 2—3 Wochen neigen sich die oberen Teile der Träger, der Höhe-

1) Da nur noch ein Rest von 180 ccm dieser Würze zur Verfügung stand, wurde er weiter (auf 200 ccm) verdünnt.

punkt der Vegetation ist überschritten. Während der ganzen Versuchsdauer blieb die Kultur absolut rein; Gasentbindung oder Glasblasen im Mycel wurden zu keiner Zeit beobachtet, außer dem dichten Sporangienwald ist nur Flüssigkeitsmycel vorhanden, welches die gesamte kaum noch 0,6 cm hohe Würzeschicht in dichter zusammenhängender Masse anfüllt.

Bei der Verarbeitung wurden 153 ccm Kulturflüssigkeit (nach Abgießen und Ausdrücken des eine große dicht zusammenhängende Masse bildendes Mycels) erhalten; bloßes Abgießen lieferte wenig über 100 ccm wasserklare bräunlich-gelbe Lösung. Reaktion so gut wie neutral (blaues Lackmus wird nach längerer Zeit kaum leicht gerötet). Mikroskopisch frei von Hefe oder Bakterien, die Hyphenmassen dicht von farblosen Gemmen durchsetzt, oft in langen Reihen, gewöhnlich nur von Hyphendicke (länglich), doch auch stark angeschwollen (kugelig), mit großen farblosen Fetttropfen oder körnigem Plasma. Kugelzellen wie Sproßungserscheinungen fehlen.

Alkoholbestimmung: Das wieder aufgefüllte Destillat von 153 ccm hatte spezifisches Gewicht = 0,9974 = 1,75 Vol.-Proz. Alkohol (1,39 g in 100).

Unzersetzter Würzerückstand = 0,975 g. Hier sind also binnen 29 Tagen aus 11,409 g zersetztem Zucker neben 1,2 g Pilztrockensubstanz 2,127 g[1]) Alkohol (1,75 Proz.) entstanden, und zwar ausschließlich durch das Mycel.

Pilzgewicht = 1,200 g.

Zusammengestellt ergaben Versuch 4 und 5:

	Alkohol Proz.	Pilzgewicht g	Würze- rück- stand g	Würze- ver- brauch g	Versuchsdauer
1. Voller Luftzutritt in flacher Schale (Versuch 5) (180 ccm verd. Würze)	1,75	1,2	0,975	11,409	29 Tage
2. Luftabschluß durch Gärverschluß (Versuch 4) (250 ccm konz. Würze)	2,16	0,172	34,15	9,700	38 Tage

Auch bei Luftabschluß scheint hier eine erhebliche Zuckermenge zersetzt zu sein, vergleichbar mit dem Schalenversuch wird der Versuch aber erst nach Reduktion auf gleiches Volumen (200 ccm), wodurch der Zuckerverbrauch auf 7,74 g (minus $^1/_5$) fällt, darauf ist dann noch die höhere Würzekonzentration in Anschlag zu bringen. Immerhin steht im Hinblick auf den Schalenversuch mit 6facher Trockensubstanz die Zuckerzersetzung bei Luftabschluß in keinem Verhältnis zu der erzeugten Pilzernte. Nur die normale Atmung gewährleistet reichliche Substanzbildung, ohne aber deshalb merklich weniger Alkohol zu liefern.

Unter Hinzuziehung der Resultate von Versuchsreihe 1 erhalten wir also für M. racemosus folgende Zahlen:

(Siehe Tabelle p. 567.)

Versuch 2 und 5 sind bezüglich der Resultate mit den übrigen nicht ohne weiteres vergleichbar — Versuch 1 war bakteriell infiziert — da No. 2 mit einem etwas größeren Quantum fast dreifach konzentrierter

1) d. h. ohne Berücksichtigung der Verdunstung; auf 200 ccm (statt 153 ccm) berechnet = 2,78 g.

	Pilzernte	Erzeugter Alkohol		Zucker-verbrauch	Versuchs-dauer	Zuckerverbrauch auf 100 g berechnet [1])
	g	g	Vol.-Proz.	g	Tage	Proz.
1. Absperren der Luft (Gärverschluß), 200 ccm	0,171	1,92 [2])	1,20 [2])	5,254	24	38,18
2. Ebenso 250 ccm (hier unverdünnte Würze)	0,172	4,275 (3,420 in 200 ccm)	2,16	9,700 (7,74 auf 200 ccm berechnet)	38	22,12 [3])
3. Mäßiger Luftzutritt (Wattepfropf), 200 ccm	0,456	3,98	2,51	10,077	28	73,23
4. Voller Luftzutritt (Lüftung), 200 ccm	0,708	3,98	2,51	12,683	29	92,17
5. Ebenso, 200 bez. 180 ccm (Schalenversuch) (bei Verarbeit. 153 ccm).	1,320 (1,20 [4])	2,127 (2,78 g auf 200 ccm berechnet)	1,75	12,550 (11,409) [4])	29	92,13

Würze, Versuch 5 andererseits mit etwas schwächerer Würze angestellt ist, hier überdies die Verdunstung in Anschlag zu bringen ist; genau läßt sich das kaum in Rechnung stellen, immerhin würden die Zahlen in No. 2 kleiner, in No. 5 etwas größer werden.

Gesamtergebnisse für M. racemosus.

Den bereits oben gezogenen Ergebnissen ist nur einzelnes hinzuzufügen. Für die Alkoholbildung scheint es belanglos zu sein, ob der Pilz in gelüfteter Würze bezw. in niedriger Schicht an freier Luft kultiviert (Versuch 5) oder ob der Sauerstoff gänzlich abgesperrt wird (Versuch 2), nur das Wachstum, nicht die Gärung wird durch Luftabschluß merklich beeinflußt. Die Differenz von 0,4 Proz. zwischen Versuch 2 und 5 fände wohl schon durch Verdunstung (die ein Minus von 47 ccm Flüssigkeit ergab) Erklärung, wenn man nicht überhaupt eine langsame Wiederzersetzung bei vollem Luftzutritt annehmen will. Jedenfalls wird durch reichliche Luftgegenwart die Alhoholentstehung nicht unterdrückt, Wachstum und Zuckerzersetzung dagegen außerordentlich begünstigt, so daß nunmehr mehr als 92 Proz. der Würzebestandteile (gegen ca. 38 Proz. bei Luftabschluß und 73 Proz. bei fehlender besonderer Lüftung) zersetzt werden. Die Alkoholgrenze des Pilzes liegt offenbar bereits bei gegen 2,5 Vol.-Proz. (= c. 2 Gew.-Proz.), Brefeld[5]) will nach 6—8 Wochen 4,5 Gew.-Proz. bei höherer Temperatur sogar $5^1/_2$ Gew.-Proz. erhalten haben, aber schon Fitz[6]) fand bei Wiederholung seiner Versuche nur ungefähr halb so viel (2,3—2,7 Proz. gegen früher 3,5—4 Proz.), Pasteur[7]) dagegen 3,3—3,4 Gew.-Proz. Die Angaben von Fitz beziehen sich auf Most

1) Also auf Proz. der Würzetrockensubstanz.
2) Infizierter Versuch (Bacterium Güntheri).
3) Diese Zahl der hier konzentrierteren Würze wegen nicht mit den übrigen vergleichbar.
4) Die eingeklammerten Zahlen sind die für 180 ccm Würze wirklich gefundenen, die darüber stehenden, etwas höheren sind auf 200 ccm Würze berechnet.
5) Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. V. 1876. p. 281 u. f.
6) Ber. Chem. Gesellsch. Bd. IX. 1876. p. 1354.
7) Etudes sur la bière. Paris 1876. p. 133 u. f.

als Substrat (6 Wochen), die von Pasteur auf Bierwürze (2 bis 2 1/2 Jahre Gärdauer), Brefelds auf künstliche Nährlösung (6—8 Wochen). Uebrigens beobachteten Emmerling[1]) in Rohruckerlösung mit Nährsalzen (3—4 Wochen) nur 1,46 Proz., Gayon und Dubourg[2]) in Dextrinlösung 2,1 Proz., Chr. Hansen[3]) in Würze dagegen sogar 7 Proz. (12 Monate). Ob die über 3 Proz. hinausgehenden Alkoholzahlen tatsächlich auf M. racemosus zu beziehen sind, möchte ich nach meinen Resultaten mit der notorisch leicht vergärbaren Würze zunächst doch bezweifeln, zumal es nicht den Anschein hat, daß Verlängerung der Gärdauer eine wesentliche Steigerung der Alkoholzahlen bewirkt, auch die Würzekonzentration da ohne Einfluß zu sein scheint (s. Versuch 4). Inwieweit allerdings die Temperatur mitspielt, bliebe noch festzustellen, meine Angaben beziehen sich ausschließlich auf Wärmegrade (± 13°) etwas unterhalb des Optimums, wo aber Wachstum wie Gärung flott verlaufen. Wie Fitz[4]) zu der offenbar irrigen Meinung kommt, daß Mucor-Gärungen eine etwas höhere Temperatur verlangen (ca. 25—28°), unterhalb derselben (15°) aber äußerst langsam verlaufen, ist mir nicht erklärlich; nicht allein durch obige, sondern auch durch die späteren Versuche mit M. javanicus, der trotz seines hohen Wachstumsoptimums (oberhalb 30°) bei 13° lebhaft gärt, wird das direkt widerlegt.

Die Alkoholbildung ist aber nicht bloß vom Luftabschluß unabhängig, sondern auch von der Entstehung einer besonderen Kugelhefe, also eines einzelligen Sproßzustandes, wie sich das zur Evidenz aus den Versuchen ergibt; es genügt kontinuierliche Lüftung des Versuchskolbens[5]) oder Kultur in weiten Schalen, um Septierung des Mycels und Entstehung von Kugelzellen völlig auszuschließen; Gärung und Sprossung stehen also in keiner engeren Beziehung, Gärwirkung ist immer da, Kugelhefe nur bei behindertem Sauerstoffzutritt[6]). Die frühere Angabe, daß M. racemosus nur bei Luftabschluß Gärung erregt, andernfalls aber „den Zucker zu Kohlensäure und Wasser verbrennt", wie das wiederholt in dieser Form wörtlich ausgesprochen wurde[7]), ist ebensowenig zutreffend, wie die weitere Behauptung, daß diese Gärung durch seine Kugelhefe hervorgerufen werde; tatsächlich zerfällt, selbst unter Gärverschluß, nur ein bescheidener Teil seines Mycels in sprossende Kugelzellen, und die übrig bleibenden Hyphen beteiligen sich in gleicher Weise an der Alkoholbildung; gerade bei

1) Ber. Chem. Gesellsch. Bd. XXX. 1897. p. 454.

2) Ann. Inst. Pasteur. T. I. 1887. p. 532.

3) Compt. rend. Travaux d. laborat. Carlsberg. T. II. 1888. Livr. 5. (Nur in Referaten mir zugänglich.)

4) Ber. Chem. Ges. Bd. VI. 1876. p. 52.

5) Daß auch in gewöhnlichen Kulturen ohne besondere Luftzufuhr zu der Flüssigkeit Kugelzellbildung und Sprossungserscheinungen nur spärlich bezw. untergeordnet auftreten, wurde schon oben bemerkt; es bedarf also nicht einmal einer guten Durchlüftung, um die Sporen zu Mycel auskeimen zu machen — cf. Klebs (Fortpflanzungsphysiologie niederer Organismen. Jena 1896. p. 522), der dieser Meinung ist — das ist vielmehr der gewöhnliche Fall.

6) Es ist das also ungefähr das Gegenteil von dem, wie es gewöhnlich auch in Lehrbüchern dargestellt wird, so z. B. in der Gärungschemie von Ad. Mayer, 1902, p. 103, derzufolge übrigens M. racemosus „mächtige, dunkelgefärbte Sporangien, beinahe in der Größe von kleinen Stecknadelköpfen auf 5 cm langen Fruchtträgern hervorbringt" (p. 100). Demgegenüber ist M. racemosus vielmehr eine sehr zarte Species mit kaum sichtbaren, hellfarbigen Sporangien, und es ist bedauerlich, daß Mayer diesen Angaben nicht etwas mehr Sorgfalt zugewendet hat.

7) S. z. B. Fitz, Ber. Chem. Ges. Bd. VI. 1873. p. 51; Brefeld, l. c. u. a.

diesem Pilz findet ein weitgehender Zerfall des Mycels, wie das früher immer betont wurde, nicht statt, am wenigsten genügt dazu Untertauchen in die gärfähige Flüssigkeit, wie das seinerzeit zuerst von Bail[1]) behauptet wurde, denn die typische Wachstumsart dieses Pilzes ist überhaupt das submerse mit bescheidenen Sauerstoffmengen vorliebnehmende Mycel; nur Sporangienträger werden in den Luftraum emporgeschickt. Selbst in tieferen Flüssigkeitsschichten kommt es nur allmählich zu einer sparsamen Kugelzellbildung, im allgemeinen muß dazu aber andauernder Sauerstoffmangel experimentell geschaffen werden. Jedenfalls können frühere Untersucher, wenn ihre Resultate richtig waren, nicht diesen Pilz vor sich gehabt haben[2]), ich bezweifle aber mit einigem Recht, ob derartige Angaben überhaupt auf irgend eine Mucor-Art genau passen, und halte sie gutenteils für nicht exakt erwiesen, denn auch das Mycel anderer Species lebt innerhalb der Flüssigkeit und zerfällt nur unter besonderen Umständen und keineswegs bei bloßer submerser Vegetation durch Septenbildung.

Der Pilz.

Angesichts der Herkunft meines Versuchsmaterials — die Originalkultur verdanke ich, wie schon bemerkt, Herrn Prof. Chr. Hansen — lag ein Grund, an seiner Identität mit M. racemosus zu zweifeln, nicht vor, nichtsdestoweniger habe ich diese Frage noch speziell geprüft. Ich gebe zunächst die Beschreibung des eigenen Pilzes (siehe Fig. 3).

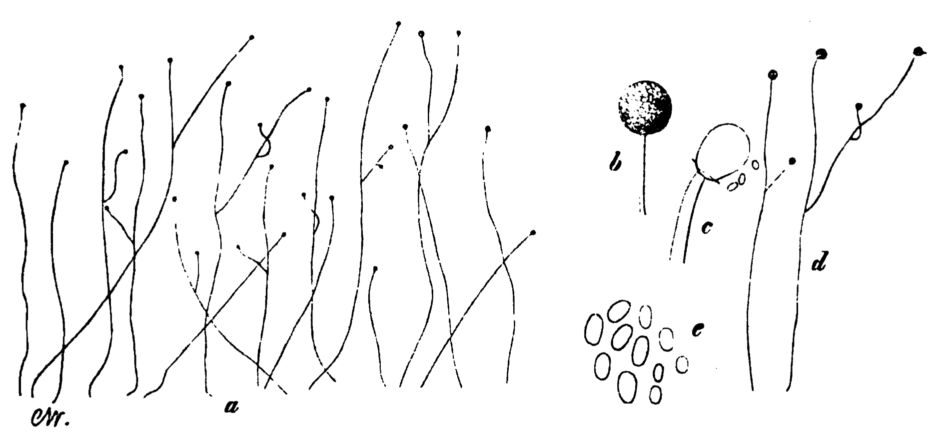


Fig. 3. Mucor racemosus. *a* Sporangienträger aus einer jungen Vegetation auf verd. Würze in situ nach Lupenvergrößerung gezeichnet. Vergr. ca. 10 fach. *d* Ebenso ca. 20 fach vergr. gezeichnet. *b* Sporangium (Vergr. ca. 175). *c* Columella (ca. 350). *e* Sporen (ca. 700).

Die Art gehört mit zu den zartesten der Gattung, die Sporangien sind so klein, daß sie kaum mit bloßem Auge wahrnehmbar sind, nur bei etwas stärkerer Färbung (bräunlich) treten sie auf hellem Grunde soeben hervor, nicht selten sind sie aber fast farblos (gelblich) und fallen dann überhaupt nicht auf. Der Durchmesser bewegt sich zwischen

1) Journ. prakt. Chem. Bd. CI. p. 47.

2) Da bei Bail, Rees, Fitz, Pasteur Beschreibungen ihres Pilzes fehlen läßt sich über diesen Punkt Sicheres nicht ermitteln.

37—50 μ. Sie sind also ebenso unansehnlich, wie die von M. Rouxii und M. hiemalis, stehen hinter denen von M. javanicus immer noch merklich, hinter denen von M. Mucedo, M. piriformis, Rhizopos nigricans aber ganz erheblich zurück. Ebenso zierlich sind die schneeweißen Stiele, welche oft nur wenige Millimeter (2—5) messen, doch auch 1 cm erreichen, und unter bestimmten Verhältnissen selbst 2—3 cm hoch werden; hier entscheiden lediglich die besonderen Umstände.

Volle umfangreiche Sporangienrasen habe ich gewöhnlieh nur auf festen Substanzen (Würzeagar und Gelatine, desgleichen auf den bedeckt ausgelegten feuchten Mycelien) beobachtet, selbst in größeren Kolben auf Würze entwickelte sich der Pilz vorzugsweise als submerses Mycel mit wenig regelmäßiger, ziemlich spärlicher Sporangienträgerbildung, oft in schneeweißen Gruppen. Von denen des in einigen Punkten ähnlichen M. javanicus weicht das Aussehen der Kultur merklich ab.

Die Verzweigungsart — der häufig aber ganz unverzweigten — Sporangienträger ist nicht ganz leicht festzustellen, die dicht verflochtenen Flocken zerreißen gewöhnlich beim Präparieren, so daß nur Bruchstücke der Träger zu Gesicht kommen. Immerhin läßt sich feststellen, und zwar am besten mit Hilfe der Lupe an der intakten Kultur, daß diese ziemlich unregelmäßig (traubig) verzweigt sind; die Aeste mehrfach schwach gebogen.

Die Sporangienwand war in allen jüngeren Kulturen glatt und leicht zerfließlich, so daß beim Präparieren mit Wasser neben vereinzelten intakten Sporangien (mit durchsichtiger Wand) fast nur Kolumellen mit schwachem Kragenrest erhalten werden. Columella nicht aufsitzend, farblos, glatt, nie kuglig, sondern stets etwas gestreckt (oval bis eiförmig), im Mittel 22×17 μ. Gleiches gilt von den Sporen, die bald sehr gleichmäßig, doch auch ungleich sein können (ellipsoidisch, meist $5{,}6—7 \times 4{,}2$ μ, neben kleineren und größeren); kuglige Sporen sah ich bislang ebensowenig wie eine brüchige Sporangienwand, letzteres mag aber an eingetrocknetem Material vorkommen, auch Zygosporen kamen bislang nicht zur Beobachtung, bilden sich vielleicht auch unter den eingehaltenen Kulturbedingungen nicht leicht (Würze, Agar, Gelatine).

Um so reichlicher findet man jedoch und fast überall (mit Ausnahme der Kulturen bei Luftabschluß), die bekannten Gemmen in großer Zahl in den Mycelien; von den mir bekannt gewordenen Arten habe ich sie bei keiner in ähnlicher Menge angetroffen. Sie entstehen ebensogut in submersen Mycelien wie an der Oberfläche, bleiben bald klein, rundlich-kubisch bis gestreckt, bald schwellen sie zu größeren, glatten, farblosen bis gelblichen Kugeln, im Durchmesser den der Hyphen übertreffend, an.

Kugelzellen entstehen, wie bereits erwähnt, nur als Folge gestörten Luftzutritts (also nicht bei steter Lüftung der Kultur oder in Schalenversuchen), sie wachsen dann entweder mit zartem Keimschlauch aus oder zeigen, bei völligem Luftmangel, Knospenbildung in bekannter Weise; solche Kugelhefe entsteht aber durchweg ziemlich spärlich.

Das Mycel erreicht je nachdem eine Dicke von 10 μ und darüber.

Als für die Diagnose wesentlich blieben hienach folgende Punkte: Sporangienrasen sehr zart, oft nicht über 5 mm, doch bis ca. 3 cm hoch, schneeweiß, grauweiß bis hellbräunlich, Sporangien sehr klein, kaum sichtbar, kuglig, bis 50 μ im Durchmesser, gelblich oder bräunlich-

gelb, mit durchscheinender, zerfließender Wand, ovaler bis eiförmiger, farbloser, nicht aufsitzender Columella (22 × 17 μ im Mittel) mit schwachem Kragenrest. Sporangienträger einfach oder unregelmäßig (racemisch) verzweigt, farblos, Sporen farblos, glatt, ellipsoidisch, oft sehr gleichmäßig (6 × 4,2 μ), doch in Größe und Form auch abweichend, aber nie kuglig.

Auf einen Vergleich mit dem von älteren Forschern als M. racemosus bezeichneten Pilz muß leider mangels früherer Beschreibungen ganz verzichtet werden; Bail[1]), Fitz[2]), Rees[3]), Pasteur[4]) u. a. führen besondere morphologische Merkmale ihres Pilzes nicht an, auch ist fraglich, inwieweit wenigstens die zwei ersten mit Reinkulturen arbeiteten, bei Bail scheint das überhaupt ausgeschlossen. Erst Brefeld[5]) gibt auch eine klare Abbildung seines Pilzes, dessen Sporen und Columella, minder der Sporangienträger, mit unserem übereinstimmen. Wir halten uns aber zweckmäßig an die von A. Fischer[6]) entworfene Diagnose, deren Hauptpunkte: racemisch verzweigte Träger, kleine, glatte Sporangien (20—70 μ), längliche Columella (30 × 20 μ im Mittel), ellipsoidische oder kuglige (?) Sporen (6—10 × 5—8 μ), sind; abgesehen von der nicht zerfließlichen, sondern brüchigen Sporangienwand — ein meines Erachtens variables Merkmal — stimmt das befriedigend auf unseren Pilz, und die noch bestehenden Differenzen erledigen sich voraussichtlich in anderer Weise. Ueberdies weichen aber die Beschreibungen sämtlicher anderer Species in weit wesentlicheren Punkten (Größen- und Gestaltsverhältnisse) von unserer Art ab, auch gilt gerade M. racemosus als recht variable Species. A. Fischer will sie sogar mehr als Kollektivspecies auffassen. Ich glaube freilich, daß bei genauerem Verfolg die Art sich befriedigend von den anderen wird abgrenzen lassen.

Nach dem allen ist unser Pilz wohl mit Fug und Recht als M. racemosus anzusehen.

Uebrigens gibt gerade diese Art Veranlassung, darauf hinzuweisen, mit welcher Vorsicht allein der Sporangienträger zur Diagnose heranzuziehen ist; er ist so ungemein variabel, daß man in nebeneinander stehenden Kulturen auf verschiedenen Substraten ganz verschiedene Pilze vor sich zu haben glaubt, aber selbst auf gleichem Substrat kommt das vor, wenn nur die sonstigen Bedingungen etwas variieren. Bald erscheinen nur spärliche, kaum sichtbare, zwergige Träger, bald ein dichter, hell rehfarbener Rasen, bald ein schneeiger, 2—3 cm hoher Wald, und zwar in direkt voneinander abgeleiteten Kulturen, je nachdem ob man unter Watte im Kolben, in Schale unter loser Bedeckung, im Reagenzglas auf Agarwürze, Würzegelatine oder sonstwie kultiviert. Da mag die sich ansammelnde Kohlensäure, Luftfeuchtigkeit, physikalische Beschaffenheit des Substrats, Licht, Bewegung und anderes mitsprechen, ohne daß es mir bislang gelang, die Bedingungen für das eine oder andere präzis zu formulieren. Dazu kommt dann noch, daß vielfach

1) Journ. prakt. Chem. Bd. CI. 1857. p. 47; Flora, Regensburg 1857. p. 417.

2) Ber. Chem. Gesellsch. Bd. VI. 1873. p. 48; Bd. VIII. 1875. p. 1540; Bd. IX. 1876. p. 1352.

3) Botanische Untersuchungen über Alkoholgärungspilze. Leipzig 1870.

4) Etudes sur la bière. Paris 1876. p. 126 u. f.

5) Landw. Jahrbücher. Bd. V. 1876. p. 281 u. f.; Unters. a. d. Gesamtgebiete d. Mykologie. 1889. Heft 8.

6) Phycomycetes, in Rabenhorst, Kryptogamenflora. 2. Aufl. Bd. I. Abt. 4. Leipzig 1892. p. 192.

und gerade in üppig wachsenden Kulturen ausschließlich unverzweigte Träger entstehen. Auf ganz ähnliche Beobachtungen bei M. javanicus komme ich bei diesem noch kurz zurück.

Unter solchen Umständen erscheint es angezeigt, bei der Beschreibung von Mucorineen genau die Kulturbedingungen zu beachten, möglichst auch physiologische Merkmale heranzuziehen. In letzterer Hinsicht füge ich noch hinzu, daß M. racemosus in Zuckerlösungen keine Säure bildet, Gelatinewürze erst nach längerer Zeit verflüssigt und ein niedrig liegendes Wachstumsmaximum (bei ca. 31°) besitzt; tatsächlich ist er im Brutschrank oberhalb 32° überhaupt nicht mehr zur Entwickelung zu bringen. Auf sein Verhalten zu den verschiedenen Zuckerarten komme ich bei anderer Gelegenheit zurück.

Zur Entstehung von Essigsäure bei der alkoholischen Gärung.

[Mitteilung aus dem chemischen Versuchs- und Hefe-Reinzucht-Laboratorium der k. k. höheren Lehranstalt für Wein- und Obstbau in Klosterneuburg.]

Von Dr. **Rudolf Reisch,** Adjunkt.

Das normale Auftreten von flüchtiger Säure, beziehungsweise von deren Hauptbestandteil, der Essigsäure, bei der alkoholischen Gärung wird heute allgemein zugegeben. Schon zur Zeit der Pasteurschen Untersuchungen über die Gärungsprodukte stellten Béchamp und später Duclaux fest, daß entgegen der Anschauung Pasteurs sich Essigsäure regelmäßig in vergorenen Flüssigkeiten vorfindet. Da nun auch später bei den vollkommen einwandfreien Versuchen mit Reinkulturen immer wieder das Vorkommen von Essigsäure beobachtet wurde, wie dies insbesondere W. Seifert[1]) gezeigt hat, so stellt sich diese Erscheinung als eine eines weiteren Beweises nicht mehr bedürftige Tatsache dar. Dagegen sind, wenn man von einigen schon veralteten Versuchen Duclaux' absieht, in der Literatur keine systematischen Untersuchungen zu finden, welche sich auf die Bildung der Essigsäure in den einzelnen Stadien der Gärung und auf die diesen Vorgang fördernden oder hemmenden Umstände erstrecken. Um diese Lücke in unserer Kenntnis der Gärungsvorgänge auszufüllen, habe ich derartige Versuche ausgeführt, welche sich den von W. Seifert und mir in dieser Zeitschrift veröffentlichten Untersuchungen „Zur Entstehung des Glycerins bei der alkoholischen Gärung"[2]) anschließen.

Zunächst sollen einige Versuche angeführt werden, die eine allgemeine Orientierung auf unserem Gebiete anstreben. Es handelt sich dabei vor allem um Klarstellung der Frage, ob die Bildung von Essigsäure während der Gärung eine an die Lebenstätigkeit der Hefe geknüpfte Erscheinung, eine biologische Erscheinung, oder ein außerhalb der Zelle sich abspielender, in der Einwirkung von Sauerstoff auf schon vorhandenen Alkohol bestehender Vorgang, ein rein chemischer Vorgang ist.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897. p. 343 und Zeitschr. f. d. landw. Versuchsw. in Oesterreich. Bd. IV. 1901. p. 227.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. 1904. p. 574.

Um auf experimentellem Wege zu zeigen, welche von diesen beiden Anschauungen zutrifft, wurden zwei Parallelversuche angestellt, indem einerseits die Vergärung bei Gegenwart von Luft vorgenommen, andererseits die Luft durch Einleiten von Kohlensäure aus dem Gärgefäße verdrängt wurde. Zu diesen Versuchen wie auch zu allen folgenden wurde, wenn nicht anderes besonders bemerkt ist, sterilisierter Traubenmost verwendet, die Gärung mit reingezüchteter Weinhefe und zwar mit einer Gumpoldskirchner Rasse eingeleitet und unter Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln gegen Infektionen durchgeführt. Dort, wo die Gärung bei Gegenwart von Luft vor sich ging, trugen die mit Most gefüllten Kolben einen mit Schwefelsäure abgesperrten Gärspund; nebenbei wurde noch ein Versuch gemacht, in welchem der Kolben durch einen Wattebausch verschlossen war. In den Versuchen mit Kohlensäuredurchleitung wurden dieselben Moste in Flaschen gebracht, auf welche ein doppelt durchbohrter Kautschukstopfen gesetzt wurde, durch dessen Bohrungen ein Gärspund und ein mit einem Wattefilter versehener Vorstoß gesteckt worden waren. Durch diesen Vorstoß wurde sofort nach Vornahme der Impfung Kohlensäure eingeleitet und dies bis zum Schlusse der Gärung fortgesetzt. Die flüchtigen Säuren wurden vor und nach der Gärung bestimmt und als Essigsäure berechnet.

Tabelle I.

Essigsäure im		g in 1 l	
		1. Versuch	2. Versuch
	Most	0,14	0,21
nach der Gärung	Kolben mit Gärspund	0,72	0,72
nach der Gärung	Kolben mit Wattebausch	0,77	—
nach der Gärung	Kolben mit Kohlensäuredurchleitung	0,67	0,58

Wir sehen hier, daß allerdings in dem Kolben mit Kohlensäuredurchleitung eine verminderte Bildung von Essigsäure stattgefunden hat; wir sehen aber auch, daß trotz der Ausschaltung der Sauerstoffwirkung die Essigsäuremenge nicht sehr hinter jener zurückgeblieben ist, welche bei Gegenwart von Luft entstanden war, und daß mithin die flüchtigen Säuren wenigstens zum weitaus größeren Teile ihre Entstehung direkt der Lebenstätigkeit der Hefe verdanken. Dieses geringfügige Plus des Essigsäuregehaltes, das sich bei Anwesenheit von Luft zeigt, muß übrigens durchaus nicht als die Folge einer Oxydationswirkung des Sauerstoffes auf den Alkohol aufgefaßt werden. Wie bekannt, ist ja die Kohlensäure ein Hefegift. Es erscheint infolgedessen die Auffassung ganz berechtigt, daß die schon vor Beginn der eigentlichen Gärung reichlich vorhandene Kohlensäure die Lebenstätigkeit der Hefe einigermaßen hemmt und damit auch die essigsäurebildende Funktion schädigt. Und dort, wo diese ungünstige Kohlensäurewirkung fortfällt, würde eben jene Funktion zu ihrer uneingeschränkten Wirksamkeit kommen.

Nachdem wir nun gesehen haben, daß die Bildung von Essigsäure sich darstellt als ein Prozeß, der direkt mit der Lebenstätigkeit der Hefe zusammenhängt, ergibt sich nun die weitere Frage, ob dieser Prozeß ganz im allgemeinen an die Lebenserscheinungen der Hefe geknüpft ist oder speziell nur an jene Form, die wir als Gärung bezeichnen. Zur Beleuchtung dieser Verhältnisse wurde die Menge Essigsäure bestimmt, die in einer Flüssigkeit produziert wurde, in welcher sich die Hefe ver-

mehrte, ohne Gärung hervorzurufen. Hierzu wurde die Hefe in eine Lösung eingebracht, die neben den nötigen Mineralstoffen und Pepton Milchzucker, ein für die angewendete Hefeart nicht vergärbares Kohlehydrat, enthielt. Es konnte eine zwar nur langsame, aber deutliche Vermehrung der Hefe beobachtet werden. Dagegen war so gut wie gar keine Zunahme an flüchtigen Säuren zu konstatieren. Es wurden nämlich nach 2 Monaten des Hefewachstumes gefunden: 0,09 g Essigsäure pro Liter bei einem ursprünglichen Gehalte von 0,06 g. Diese Differenz ist so geringfügig, daß sie schon innerhalb der Fehlergrenzen zu liegen kommt. Dieser Versuch spricht also dafür, daß die Essigsäure nicht unter allen Umständen gebildet wird von einer in Vermehrung und Wachstum begriffenen Hefe, sondern nur von einer solchen, welche sich gleichzeitig in Gärtätigkeit befindet.

Ferner will ich hier noch eine allgemeine Bemerkung vorausschicken die sich aus einem später zu erörternden und zu anderen Zwecken unternommenen Versuche ergibt. Es wurde dort der gleiche Most von drei verschiedenen Heferassen vergoren und zwar von einer Gumpoldskirchner, einer Tokayer und einer Piesporter. Die von ihnen gebildeten Essigsäuremengen betrugen bezw. 0,77, 0,59, 0,35 g in 1 Liter bei einem ursprünglichen Gehalte des Mostes von 0,16 g. Diese ziemlich bedeutenden Unterschiede sind aber nicht als zufällige zu betrachten. Denn andererseitts ist bei ein und derselben Heferasse, normale Umstände vorausgesetzt, die im Verlaufe der Gärung entstandene Essigsäuremenge, jene Menge also, die man nach Abzug der anfänglich vorhandenen Essigsäure von dem nach Schlusse der Gärung erreichten Gehalte erhält, nahezu von der gleichen Größe. So bewegen sich z. B. die entsprechenden Werte in allen unseren Versuchen mit Gumpoldskirchner Hefe in engen Grenzen um 0,55 herum. Es erscheint demnach die Funktion der Essigsäurebildung als eine von der Heferasse abhängige und für diese charakteristische Eigenschaft. Ob ein Zusammenhang zwischen dieser Eigenschaft und den übrigen bei den einzelnen Heferassen besteht, konnte ich vorläufig nicht feststellen; nur auf den interessanten Umstand will ich hinweisen, daß unter den drei erwähnten Heferassen diejenige, welche die meiste Essigsäure bildete, die Gumpoldskirchner, auch die weitaus gärkräftigste war.

In Bezug auf die Menge, welche als Maximalwert für die durch die Gärtätigkeit gebildete Essigsäure festgesetzt werden kann, ist W. Seifert[1]) auf Grund seiner Versuche zu dem Schlusse gelangt, daß sie 0,6 g in 1 l nicht wesentlich übersteigt. Durch unsere Versuche wird die Richtigkeit dieser Angabe durchaus bestätigt.

Die Entstehung der Essigsäure in den einzelnen Stadien der Gärung.

Zur Untersuchung der Frage, wie sich die Bildung der Essigsäure auf die einzelnen Stadien der Gärung verteilt, wurden zunächst zwei Versuchsreihen durchgeführt. Je 200 ccm des gleichen Mostes wurden hierbei in eine Anzahl von Kolben abgefüllt und die einzelnen Kolben entsprechend dem Fortschritte der Gärung, welche durch Zugabe von gleichen Mengen Reinhefe eingeleitet worden war, zur Bestimmung der Essigsäure herangezogen. Die auf diesem Wege ermittelten Zahlen

1) Zeitschr. f. d. landw. Versuchsw. in Oesterreich. Bd. IV. 1901. p. 227.

boten jedoch kein klares Bild, indem sich unregelmäßige Schwankungen im Essigsäuregehalte zeigten, die sich mit dem durch Bestimmung anderer Daten, wie Gewichtsverlust, Zuckerabnahme, Alkoholbildung festgelegten Verlaufe der Gärung nicht in einfacher Weise vereinen ließen. Diese Differenzen ließen sich nicht als solche betrachten, welche durch die angewandte Methode — es war die bei der Weinuntersuchung übliche — bedingt waren. Wie sich aus den Doppelbestimmungen ergibt, die ich in allen Fällen vorgenommen habe, kann die Fehlergrenze bei genau gleicher Arbeitsweise und bei nicht zu großen Essigsäuremengen mit 0,03—0,05 g pro Liter angenommen werden. Die Schwankungen gingen aber darüber hinaus, wiewohl als der richtige Wert das arithmetische Mittel der Doppelbestimmungen genommen wurde und eher eine Aenderung im entgegengesetzten Sinne zu erwarten gewesen wäre. Unter diesen Umständen konnte man vielleicht eine Erklärung für diese Schwankungen darin suchen, daß die Entstehung der Essigsäure sich mit dem allgemeinen Verlaufe des Gärungsprozesses nicht in einer Richtung bewege, bezw. daß während der Gärung nicht nur Bildung, sondern auch Verbrauch von Essigsäure stattfinde. Es war aber noch eine andere Möglichkeit vorhanden. Es wurden die Proben verschiedenen Kolben entnommen. Und wenn auch der Fortschritt der Gärung bei den aufeinanderfolgenden Untersuchungen der einzelnen Kolben durch die Bestimmung der oben erwähnten Größen ermittelt wurde, so waren es schließlich doch nicht verschiedene Stadien eines und desselben Gärprozesses. Es konnte ja der Verlauf der Gärung in den verschiedenen Kolben doch in mancher Beziehung ein andersartiger sein. Denn trotz aller Bestrebungen, die Gärbedingungen in einer Reihe von Kolben möglichst gleichartig zu gestalten, läßt sich eine absolute Gleichförmigkeit nicht erzielen, und es bleiben immer individuelle Differenzen zurück. Um nun eine Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten treffen zu können, wurde eine dritte Versuchsreihe in der Weise durchgeführt, daß die eben berührten Ungleichförmigkeiten ausgeschlossen waren. Es wurde nämlich die gesamte zur Untersuchung nötige Menge Most (1,6 l) in einen einzigen Kolben gebracht und darin in Gärung versetzt. Die Proben, welche nach und nach, selbstverständlich unter Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln gegen Infektionen aus dem Kolben genommen wurden, stellten nun zweifellos die verschiedenen Stadien eines und desselben Gärprozesses dar. Und in der Tat kamen auch bei dieser Versuchsanordnung die früher beobachteten Schwankungen nicht mehr zum Vorschein.

In der folgenden Tabelle sind die Resultate der Versuche zusammengestellt. Beim 1. Versuche wurde neben der Essigsäure zur Feststellung des Gärverlaufes der durch das Entweichen der Kohlensäure bedingte Gewichtsverlust bestimmt, beim zweiten die Zuckerabnahme, beim dritten die Zuckerabnahme und der Alkohol.

(Siehe Tabelle p. 576.)

Als Grundlage der Besprechung möge insbesondere der klare dritte Versuch dienen. Wir sehen daraus, daß zu Beginn, zu einer Zeit, wo zwar noch keine merkliche Alkoholbildung, wohl aber ein der Vermehrung der Hefe zugute kommender Zuckerverbrauch stattfindet, keine nennenswerten Mengen von Essigsäure erzeugt werden. Sofort nach Eintritt der eigentlichen Gärung können wir aber ein plötzliches, starkes Anwachsen des Essigsäuregehaltes beobachten, welches sehr bald eine

Tabelle II.

1. Versuch			2. Versuch		
Datum	g in 1 l		Datum	g in 1 l	
	Gewichtsverlust	Essigsäure		vergorener Zucker	Essigsäure
22. Sept. 1903 (Most)	Zucker: 139,8 g	0,19	10. Nov. 1903 (Most)	Zucker: 179,1 g	0,20
26. Sept.	6,2	0,45	14. Nov.	9,7	0,49
29. „	30,0	0,72	16. „	36,2	0,45
2. Okt.	34,0	0,74	17. „	68,7	0,61
5. „	52,0	0,82	18. „	66,9	0,53
12. „	62,5	0,75	20. „	93,6	0,66
			21. „	124,7	0,59
			24. „	147,9	0,67
			26. „	—	0,63
			30. „	—	0,70

3. Versuch

Datum	Volumprozente	g in 1 l	
	Alkohol	vergorener Zucker	Essigsäure
22. Febr. 1904 (Most)		Zucker: 158,2 g	0,14
25. Febr.	0,1	10,6	0,20
27. „	2,1	42,1	0,51
29. „	4,8	85,2	0,62
2. März	7,6	132,5	0,63
4. „	9,1	151,7	0,61
10. „	9,3	ca. 158	0,64

starke Abschwächung erleidet und ganz aufhört. In unseren Versuchen war eine weitere Vermehrung der Essigsäure nicht mehr zu konstatieren, als der Zucker zur Hälfte vergoren war, bezw. der gebildete Alkohol die Hälfte der im ganzen produzierten Menge erreicht hatte.

Vergleicht man diesen Entwickelungsgang mit der von W. Seifert und mir untersuchten Entstehung des Glycerins [1]), so zeigt sich eine teilweise Analogie. Auch dort ist zur Zeit des Zuckerverbrauches ohne merkliche Alkoholbildung die Vermehrung des Glycerins ganz unbedeutend und erst bei Beginn der eigentlichen Gärung setzt die Glycerinbildung mit voller Kraft ein, um dann im weiteren Verlaufe im Verhältnisse zur Alkoholbildung stark zurückzubleiben. Aber die Periode, während welcher Glycerin produziert wird, ist doch bedeutend ausgedehnter als bei der Essigsäure. Zu einem Zeitpunkte, wo die Essigsäure schon einen konstanten Wert erreicht hat, schreitet die Glycerinbildung noch fort. Damit stimmt es auch überein, daß für das Glycerin die größte Intensität der Vermehrung auf ein etwas späteres Stadium verschoben erscheint als für die Essigsäure.

Einfluß eines Zusatzes von Alkohol auf die Bildung von Essigsäure.

Es war von Interesse, zu verfolgen, ob ein vor der Gärung gemachter Zusatz von Alkohol zu Most ähnlich, wie er die Entwickelung

1) Centralblatt für Bakt. Abt. II, Bd. XII. 1904, p. 574.

der Hefe beeinträchtigt, auch die Bildung von Essigsäure herabdrückt. Es wurden zu diesem Zwecke acht Kolben mit je 200 ccm desselben Mostes gefüllt. Ein Kolben blieb ohne Zusatz von Alkohol, während die übrigen einen solchen von je 2, 4, 8, 10, 14 und 18 ccm absoluten Alkohols erhielten, so daß die ursprünglichen Alkoholgehalte 0,0, 0,1, 1,0, 2,0, 2,9, 3,8, 4,7, 6,5 und 8,2 Volumprozente betrugen. Die Moste wurden mit der Gumpoldskirchner Reinhefe in Gärung versetzt und nach deren Beendigung auf Alkohol und Essigsäure untersucht.

Tabelle III.

Kolben-No.	Volumprozente Alkohol		g in 1 l
	vor der Gärung	nach der Gärung	Essigsäure
Most	—	—	0,05
I	0,0	9,0	0,75
II	1,0	10,1	0,64
III	2,0	10,8	0,62
IV	2,9	12,0	0,61
V	3,8	12,7	0,61
VI	4,7	13,5	0,64
VII	6,5	15,4	0,61
VIII	8,2	16,9	0,66

Abgesehen von dem Falle, in welchem gar kein Alkohol zugesetzt wurde, bestehen keine merklichen Unterschiede im Essigsäuregehalte. Aber auch in diesem einen Falle ist die Differenz keine beträchtliche, und ich will es dahingestellt sein lassen, ob dieser Mehrgehalt an Essigsäure nur ein zufälliger ist, nur als das zu betrachten ist, was ich weiter oben individuelle Differenzen genannt habe oder ob er darauf zurückzuführen ist, daß das Vorhandensein von Alkohol überhaupt die Essigsäurebildung in einem allerdings nicht bedeutenden Grade hemmt, die Mengen aber, insofern sie gewisse Grenzen nicht überschreiten, ohne weiteren Belang sind. Die zweite Anschauungsweise könnte vielleicht dadurch erklärt werden, daß nur zu Beginn der Gärung infolge der hemmenden Wirkung des Alkohols auf die Entwickelung der Hefe die Bildung der Essigsäure herabgesetzt wird, daß aber, sobald einmal die Hefe sich an den Alkohol gewöhnt hat, die Produktion von Essigsäure in normaler Weise stattfindet. Da nun aber in allen denjenigen Mosten, welche mit Alkohol in verschiedenem Grade versetzt worden sind, die gebildeten Essigsäuremengen fast ganz gleich sind, und da ferner diese Mengen im Betrage von 0,56—0,61 g in 1 l in der Größe sind, wie wir sie bei der angewendeten Heferasse in der Regel angetroffen haben, kann man es jedenfalls als Ergebnis dieser Versuche aussprechen, daß der Alkohol, selbstverständlich innerhalb der Versuchsgrenzen, einen nennenswerten Einfluß auf die Produktion von Essigsäure nicht hat.

Dasselbe Versuchsmaterial wurde auch zu Glycerinbestimmungen verwendet, welche in der zitierten Abhandlung von W. Seifert und mir angeführt sind. Im Gegensatze zu den eben besprochenen Verhältnissen zeigte es sich dort, daß der Alkohol sehr wesentlich die Entstehung des Glycerins alteriert, und es war auch ganz deutlich zu ersehen, daß die Glycerinbildung um so mehr beeinträchtigt wird, je größer die Mengen des anfänglich zugesetzten Alkohols sind.

Einfluß eines Zusatzes von Essigsäure auf die Bildung von Essigsäure.

Da die folgenden Versuche als Grundlage dienten zur Beurteilung einer später zu erörternden praktischen Frage, wurden sie in größerem Umfange und mit verhältnismäßig großen Zugaben von Essigsäure durchgeführt. Da sich aber aus ihnen auch theoretisch interessante Beziehungen entnehmen lassen, werden sie an dieser Stelle angeführt.

Mit demselben Moste wurden drei Reihen von Proben hergestellt. Die einzelnen Glieder jeder Reihe wurden mit den gleichen abgestuften Gaben von Essigsäure versetzt, so daß sie die in der Tabelle IV angeführten Mengen enthielten. Eine Probe in jeder Reihe blieb ohne Zusatz von Essigsäure und zeigte infolgedessen den Essigsäuregehalt des ursprünglichen Mostes von 0,16 g. Zur Vergärung wurde für jede Reihe eine andere Heferasse angewendet, und zwar waren es die drei, die wir schon gelegentlich der Besprechung der Abhängigkeit der Essigsäurebildung von der Heferasse kennen gelernt haben, die Gumpoldskirchner, die Piesporter und die Tokayer. Es folgen die nach der Vergärung für Essigsäure erhaltenen Werte.

Tabelle IV.

Essigsäure Gramm in 1 l			
vor der Gärung	nach der Vergärung mit Heferassen		
	Gumpoldskirchen	Tokay	Piesport
0,16	0,77	0,59	0,35
1,02	**1,07**	**1,28**	0,85
1,38	**1,54**	1,23	1,01
1,92	1,36	1,60	1,42
2,92	2,56	2,81	2,54
3,84	3,55	3,63	3,47

Diese Resultate zeigen deutlich, daß ein Zusatz von Essigsäure nicht nur äußerst schädigend auf die Bildung von Essigsäure wirkt, sondern daß sogar die ursprünglichen Essigsäuregehalte, wenn sie nur entsprechend hohe sind, eine Verminderung erfahren können. In 18 Proben war dem Moste vor der Gärung Essigsäure zugesetzt worden und nur in den drei durch Fettdruck hervorgehobenen Fällen finden wir eine Vermehrung des Essigsäuregehaltes, sonst aber eine Verminderung. Die Vermehrung tritt übrigens sehr zurück gegen diejenige, welche die Hefe bei der Vergärung des ohne Zusatz von Essigsäure belassenen Mostes bewirkt. Die Größe der Verminderung schwankt zwischen 0,11 und 0,56 g in 1 l, ist aber anscheinend unabhängig von der Menge der ursprünglich zugesetzten Essigsäure. Worauf dieser Rückgang im Essigsäuregehalte zurückzuführen ist, konnte ich nicht entscheiden. Der Gedanke, daß durch die bei der Gärung entweichende Kohlensäure ein Teil der Essigsäure mitgerissen wird, ist abzulehnen, weil die Heferasse, die am lebhaftesten gärte, durchaus keine besondere Verminderung des Essigsäuregehaltes verursachte und weil ferner keine Abhängigkeit zwischen der Größe des Verlustes und der vorhandenen Essigsäuremenge zu erkennen war. Viel mehr Wahrscheinlichkeit hat die Annahme für sich, daß der Gehalt an Essigsäure dadurch verringert wird, daß sich diese zum Teile mit dem Alkohol zu Essigester verbindet. Die in dieser Richtung ausgeführten Untersuchungen haben zwar in den mit

Essigsäure versetzten Mosten keinen nennenswerten Zuwachs an Estern ergeben; immerhin wäre es möglich, daß in diesen Mosten sich die Ester nur auf Kosten der schon vorhandenen Essigsäure bilden, und daß eben dadurch ein Teil dieser Säuren verschwindet.

Theoretische Erörterungen.

Als die angeführten Versuche schon zum größten Teile abgeschlossen waren, veröffentlichten E. Buchner und J. Meisenheimer[1]) ihre Studien „über die chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gärung". Infolge dieser Arbeit haben nun nachträglich unsere Untersuchungen insofern ein erhöhtes theoretisches Interesse gewonnen, als dort gezeigt wird, daß der Hefepreßsaft auch Essigsäure zu bilden im stande ist. Die beiden genannten Forscher nehmen das Vorhandensein eines besonderen Enzyms an, welches sie Glukacetase benennen und dessen Wirksamkeit in der Spaltung eines Moleküls Traubenzucker in drei Moleküle Essigsäure bestehen soll. Wenn wir die Versuche über die Essigsäurebildung im Verlaufe der Gärung von diesem Gesichtspunkte aus betrachten, so wirkt es etwas störend, daß dieser Prozeß so bald zum Stillstande kommt. Aber es hat sich doch schon seit längerer Zeit eine Wandlung in der Auffassung des Wesens der Enzyme vollzogen. Man legt jetzt nicht mehr so viel Gewicht darauf, daß geringe Mengen des Enzyms relativ sehr große des betreffenden Körpers umwandeln, sondern sieht ihre Wirksamkeit vielmehr darin, daß sie chemische Vorgänge auslösen, die bis zur Erreichung eines Gleichgewichtszustandes vor sich gehen. Ob dann dieser Gleichgewichtszustand erreicht wird nach Bildung von verhältnismäßig sehr großen Mengen des Umwandlungsproduktes, wie bei vielen hydrolytisch wirkenden Enzymen oder bei begrenzteren Mengen, wie bei der Zymase, oder ob die Tätigkeit des Enzyms sehr bald ihr Ende erreicht, wie bei dem hypothetischen essigsäurebildenden Enzym, ist dann nur mehr ein Gradunterschied. Wir hätten nur die weitere Annahme zu machen, daß die Glukacetase nach Bildung von geringen Mengen des Umwandlungsproduktes an die Grenze ihrer Leistungsfähigkeit gelangt. Damit im Einklange steht das Ergebnis des vorigen Versuches, daß schon nach Zusatz von wenig Essigsäure die Neubildung dieser Säure gänzlich gehindert wird.

Eine weitere Bemerkung, die Buchner und Meisenheimer bei dieser Gelegenheit machen, will ich nicht unerörtert lassen. Sie führen den Umstand, daß der Hefepreßsaft mehr Essigsäure (bis über 3 g in 1 l) zu erzeugen im stande ist, als dies bei der gewöhnlichen Gärung der Fall ist, darauf zurück, daß bei Gegenwart der Organismen die gebildete Essigsäure wieder verbraucht wird. Bei unseren Untersuchungen über die Bildung der Essigsäure in den einzelnen Stadien der Gärung, wenigstens bei den einwandfrei durchgeführten, waren Schwankungen im Essigsäuregehalt, die auf einen solchen Vorgang hinweisen würden, nicht zu beobachten. Freilich ist es durchaus nicht notwendig, daß bei Bildung und Verbrauch von Essigsäure innerhalb der Zelle entsprechende Schwankungen im Gehalte der Gärflüssigkeit selbst zum Ausdrucke kommen müßten. Dagegen ließe sich die Annahme von Buchner und Meisenheimer eventuell verwerten zur Erklärung der Verminderung der Essigsäure bei den Versuchen mit Essigsäurezusatz. Aber mir

1) Berichte der Deutschen chem. Gesellschaft. Bd. XXXVII. 1904. p. 417, und Bd. XXXVIII. 1905. p. 620.

macht es doch den Eindruck, insbesondere im Zusammenhange mit der gleich zur Sprache kommenden biologischen Bedeutung der Essigsäurebildung, daß diese Hypothese, wenigstens insoweit ein Verbrauch von Essigsäure auch unter normalen Umständen vorausgesetzt wird, das Verständnis der Ergebnisse unserer Versuche nur erschweren würde. Auch drängt meiner Meinung nach die ja nicht sehr bedeutende Mehrbildung von Essigsäure im Hefepreßsaft gar nicht zu dieser Deutung, und man könnte sich vorläufig mit dem allgemeineren Hinweise auf den Umstand begnügen, daß im Hefepreßsafte die die Enzymwirkung regulierende Tätigkeit des lebenden Organismus fortfällt und damit Unterschiede in den korrespondierenden Prozessen unvermeidlich sind.

Bei der Kompliziertheit und Ungeklärtheit der enzymatischen Vorgängen erscheint mir eine biologische Betrachtungsweise ganz am Platze. In diesem Sinne ist J. Wortmann[1]) vorgegangen, welcher die Gärungsprodukte als Hilfsmittel des betreffenden Organismus im Kampfe gegen seine Konkurrenten betrachtet. In ähnlicher Richtung bewegen sich die Gedanken M. Delbrücks[2]), der eine Einteilung der Enzyme in Verdauungs-, Kraft- und Kampfenzyme vornimmt. Nebstdem, daß eine derartige Gruppierung die Beziehung der einzelnen Funktionen zum Gesamtleben des Organismus zum Ausdruck bringt, liegt ihr Wert darin, daß sie durch den Hinweis auf den biologischen Zweck die so eigenartigen, der jeweiligen Rolle aber angepaßten Eigenschaften der Enzyme verständlich macht.

Unter den Kampfenzymen nun begreift Delbrück solche, mit deren Hilfe irgend ein Organismus Stoffe produziert, welche das Emporkommen anderer in dem betreffenden Medium sonst entwickelungsfähiger Organismen verhindert. Durch die Auffassung des essigsäurebildenden Enzyms als Kampfenzyms werden uns die Erscheinungen, die wir kennen gelernt haben, bedeutend verständlicher. Zunächst ist es leicht einzusehen, was für einen Wert die Produktion von Essigsäure für die Hefe überhaupt hat. Die Essigsäure ist ja bekanntlich insbesondere der Entwickelung vieler Bakterien schädlich; aber vielleicht dürfte ihr noch eine größere Bedeutung zukommen in der Unterdrückung minderwertiger Heferassen. Wie wir, allerdings nur aus drei Beispielen, entnommen haben, erzeugt gerade die gärkräftigste Heferasse die meiste Essigsäure, und es scheint sehr wahrscheinlich, daß diejenigen Heferassen, welche weniger Essigsäure produzieren, auch gegen Essigsäure empfindlicher sind. Ferner ist es leicht erklärlich, daß die Bildung der Essigsäure sich in dem ersten Stadium der Gärung vollzieht; denn gerade in ihrer ersten Entwickelung braucht die Hefe solche Stoffe zur Unterdrückung anderer Organismen. Daß die Bildung von Essigsäure nur bis zu einer verhältnismäßig niederen Grenze fortschreitet, dürfte darin seinen Grund haben, daß eine Erzeugung von Essigsäure über dieses Maß hinaus eine Störung in der Harmonie der übrigen Funktionen nach sich ziehen würde. Auch das paßt gut zur biologischen Bedeutung unseres Enzyms, daß die Neubildung von Essigsäure durch einen Zusatz von Essigsäure, nicht aber durch einen solchen von Alkohol verhindert wird. Denn wohl das anfängliche Vorhandensein von Essig-

1) Weinbau und Weinhandel. Bd. XX. 1902. p. 521, 533 u. 549.

2) Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XX. 1903. p. 65 u. 269, zitiert nach Jahresbericht über Agrikulturchemie für 1903. p. 549 u. 551.

säure, nicht aber das von Alkohol macht eine weitere Bildung von Essigsäure für den Konkurrenzkampf überflüssig.

Praktische Versuche.

Wir haben gesehen, daß in den Versuchen, in welchen Moste, die einen Essigsäurezusatz erhalten hatten, vergoren wurden, ein allerdings geringer Rückgang im Essigsäuregehalt stattfand. Bei der großen Bedeutung, welche die Beseitigung des Essigstiches in Weinen hat, war es daher naheliegend, Untersuchungen darüber anzustellen, ob nicht durch eine Umgärung derartiger Weine eine Verminderung des Essigsäuregehaltes bewerkstelligt werden könnte, zumal K. Windisch[1]) mit Anwendung dieses Verfahrens in einigen Fällen gute Resultate erzielt hat. Da diese Versuche ausschließlich ein praktisches Interesse hatten, wurden sie in größeren Verhältnissen angelegt. In drei Fässer von ungefähr 1 hl Inhalt wurde der gleiche mit 3 kg Zucker pro Hektoliter versetzte Wein gefüllt. Das erste Faß blieb ohne Zusatz von Essigsäure, während das zweite einen solchen von 150 ccm Eisessig und das dritte von 250 ccm erhielt. Die Nachgärung wurde in jedem Fasse durch eine solche Hefemenge eingeleitet, wie sie in 5 l Most gewachsen war. Die Essigsäuregehalte vor und nach der Umgärung waren die folgenden:

Faß-No.	Vor der Gärung	Nach der Umgärung
1	0,56 g in 1 l	0,54 g in 1 l
2	1,78 „ „ 1 „	1,89 „ „ 1 „
3	2,42 „ „ 1 „	2,56 „ „ 1 „

Unsere Versuche ergeben mithin sogar eine geringe Vermehrung der Essigsäure. Auch im Geschmack trat nach der Umgärung der Essigstich noch deutlich hervor, während im Geruch, offenbar infolge Verdeckung durch das entstandene Gärungsbukett, davon nichts zu bemerken war. In einigen Versuchen dagegen, die in den zitierten Geisenheimer Berichten mitgeteilt sind, aber auch nur in einigen konnte eine Verminderung beobachtet werden. Nach alledem erscheinen mir die Ergebnisse doch zu unsicher, um die auch ziemlich umständliche Prozedur allgemein empfehlen zu können, und nur dort, wo eine sehr sorgfältige Kellerbehandlung gewährleistet ist, kann es angezeigt sein, essigstichige Weine, nachdem sie pasteurisiert und mit einem gesunden Weine verschnitten worden sind, der Umgärung zu unterziehen.

Die Anregung zu den vorstehenden Untersuchungen hat mir Herr Prof. W. Seifert, Leiter des hiesigen chemischen Versuchs- und Hefereinzuchtlaboratoriums, gegeben, dem ich hierfür, sowie für die vielfache Unterstützung, die er mir während der Durchführung dieser Arbeit zu teil werden ließ, auch an dieser Stelle meinen besten Dank sage.

1) Weinbau und Weinhandel. Bd. XX. 1902. p. 297, und Bericht der königl. Lehranstalt in Geisenheim für das Jahr 1901. p. 137, und für das Jahr 1902. p. 297.

Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig.]

Von Dr. **F. Löhnis.**

Die Untersuchungen über die Stickstoffumsetzungen in der Ackererde, die ich seit längerer Zeit durchführte, und über die in früheren Veröffentlichungen [1]) bereits einiges mitgeteilt wurde, erstreckten sich auf die Ammoniakbildung aus Knochenmehl, Kalkstickstoff und Harnstoff, auf die Nitrifikation, Salpeterzersetzung und Stickstoffassimilation. Für die Aufstellung dieses (allerdings etwas weit ausgreifenden) Planes waren drei Gründe maßgebend: 1) wurde es auf diese Weise möglich, die bodenbakteriologischen Untersuchungsmethoden gleichzeitig nach verschiedenen Richtungen hin einer eingehenden Prüfung zu unterziehen; 2) wurde ein Ueberblick darüber erlangt, wie in einem bestimmten Falle Jahreszeit, Witterung und Bodenbearbeitung auf den Verlauf verschiedener landwirtschaftlich wichtiger Stickstoffumsetzungen bezw. auf die Funktion der dabei beteiligten Bakteriengruppen einwirkten, und 3) konnte ich mich hierbei über die Zusammensetzung dieser Bakteriengruppen in dem (vorher noch gar nicht bakteriologisch untersuchten) Boden der Versuchswirtschaft Oberholz des hiesigen landwirtschaftlichen Instituts einigermaßen orientieren. Die ins einzelne gehende Bearbeitung der verschiedenen Gruppen wird mich weiterhin beschäftigen.

Ueber die Methodik wurde in der ersten und dritten der zitierten Arbeiten das Nötigste mitgeteilt, über die Kalkstickstoffzersetzung in der letzten Abhandlung eingehend referiert; hinsichtlich ausführlicher Angaben über die Bedingungen, die Ausführung und die Resultate der Versuche muß, soweit dieselben vorwiegend auf landwirtschaftlichem und agrikulturchemischem Gebiete liegen, auf eine in einiger Zeit erscheinende besondere Arbeit verwiesen werden. An dieser Stelle seien die bisher erlangten Befunde der bakteriologischen Untersuchungen geschildert, soweit denselben ein allgemeineres Interesse beigemessen werden darf. Bei der Ausführung derselben unterstützte mich Herr Dr. W. Kuntze, Volontärassistent am hiesigen Institut, der speziell die Bearbeitung der Harnstoffbakterien übernahm.

1. Ueber stickstofffixierende Bakterien.

Es kann, wie ich vor kurzem zeigte [2]), vorkommen, daß — infolge verschieden stark ausgeprägter Fähigkeit der an bestimmten Umsetzungen beteiligten Mikroorganismen — in den Erdproben, die man ein und demselben Felde zu verschiedener Zeit entnimmt, bei im übrigen gleichbleibenden Versuchsbedingungen die Aenderungen in der Zahl der Bakterien einerseits und des durch diese Organismen hervorgerufenen Effekts andererseits mitunter in gerade entgegengesetzter Richtung verlaufen. Besonders auffällig trat diese Tatsache unter den von mir untersuchten Fällen bei der Stickstoffassimilation hervor; trotzdem im Juli 1904 auf der betreffenden, mit Kartoffeln bestandenen Parzelle (No. 24) der Versuchs-

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XII. p. 262 u. 448; Bd. XIII. p. 706; Bd. XIV. p. 1; 87 u. 389.

2) l. c. Bd. XIV. p. 6.

wirtschaft Oberholz sich bei Benutzung der Hiltner-Störmerschen Verdünnungsmethode in Mannitlösung etwa dreißigmal so viel stickstofffixierende Organismen nachweisen ließen als im Januar desselben Jahres, zeigte doch der Effekt eine deutliche Verringerung[1]). Wie ich ebenfalls bereits mitteilte, fehlte Azotobacter, dessen charakteristische Formen sich aus der im Winter entnommenen Erdprobe in der benutzten Mannitlösung fast in Reinkultur entwickelten, im Sommer nahezu völlig, und es waren an seine Stelle verschiedene kleine Formen getreten, die ich auf ihren Artcharakter sobald als möglich prüfen zu wollen, versprach. Durch die nachstehenden Mitteilungen soll diese Zusage ihre Erfüllung finden.

Bodenextrakt + 1 Proz. Mannit + 0,05 Proz. K_2HPO_4 beimpft mit 10 Proz. Erde ergab, wie ich früher[2]) berichtete, unter günstigen Umständen außergewöhnlich hohe Stickstoffgewinne. Um so deutlicher trat der zweifellos vorwiegend auf die extreme Trockenheit des vorjährigen Sommers zurückzuführende Rückgang der Stickstoffbindung im Juli hervor. Daß diese Depression nicht nur in einer Herabsetzung der Wirksamkeit des Azotobacter ihren Grund haben konnte, lehrte, wie gesagt, die makro- wie mikroskopische Betrachtung des Inhalts der Versuchskolben. Um die vermutlich vorhandenen schwachen Stickstofffixierer nicht zu verdrängen, nahm ich von weiteren Abimpfungen, die

1) In den kürzlich in diesem Blatte (Bd. XIV. p. 9, 75, 168) veröffentlichten „Berichtigungen und weiteren Mitteilungen" zu seiner früher publizierten Abhandlung „Ueber die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere Organismen" kommt Heinze u. a. (p. 170 f.) auf die auffallend geringe Zahl stickstofffixierender Mikroorganismen zu sprechen, die sich im Januar 1904 im Boden unseres Versuchsfeldes bei Benutzung der obengenannten Verdünnungsmethode ermitteln ließen. Er erhebt gegen mich zunächst den Vorwurf, daß ich nicht berücksichtigt hätte, daß die (mit Hilfe der in Rede stehenden Methode) erlangten Resultate deshalb ungenaue seien, weil je nach der größeren oder geringeren Erdmenge, die zur Impfung verwandt wurde, die chemische Zusammensetzung der Lösung variiere. Zweitens sei ich mit der Annahme im Unrecht, daß in den mit geringen Erdmengen beimpften Versuchsgefäßen eine Bakterienentwickelung nur deshalb ausbleibe, weil die betreffenden Organismen nicht in genügender Anzahl oder gar nicht vorhanden seien; und drittens halte ich es „wohl selbst für wenig wahrscheinlich", daß in je 1 g des zu den Versuchen herangezogenen Bodens nur ca. 20 „Azotobacter-Organismen.... vorhanden sein sollen". — Hierzu muß ich hinsichtlich des ersten Punktes bemerken, daß, wie ja sogar Heinze selbst (l. c. p. 87) eingesehen hat, die in meiner Arbeit enthaltenen Zahlen eben nicht die Zuverlässigkeit, sondern die Unzuverlässigkeit der unter Benutzung der Hiltner-Störmerschen Verdünnungsmethode erreichbaren Resultate deutlich erkennen lassen. Daß ich bei der Prüfung der Methode dieselbe so in Anwendung bringen mußte, wie sie von ihren Erfindern vorgeschlagen wurde, ist doch eigentlich selbstverständlich; für die Mangelhaftigkeit der auf solche Art erlangten Resultate aber mich an Stelle der betreffenden Autoren verantwortlich zu machen, erscheint mir als ein recht eigentümliches Verfahren. Allerdings habe ich mich mit der einfachen Feststellung der Tatsachen begnügt und hatte, weil meines Erachtens die Geringwertigkeit der Zählungsmethoden im Wesen dieser Arbeitsweisen selbst begründet ist, keine Veranlassung, auch noch über allerlei ebenfalls zu ungunsten dieser Methoden sprechende Nebenumstände zu spekulieren. Um so mehr muß ich aber dagegen Einspruch erheben, daß, wenn ich selbst mich stets möglichst an die tatsächlichen Befunde halte und überflüssigen Spekulationen aus dem Wege gehe, Heinze sich für berechtigt hält, mir die Geneigtheit zu einer Annahme, deren Unrichtigkeit von vornherein klar ist, ohne weiteres zu imputieren. Was endlich den dritten Punkt anlangt, so habe ich nirgends von „vorhanden sein sollen" gesprochen, sondern an der betreffenden — von Heinze nur der Seitenzahl nach (!) richtig angeführten — Stelle gesagt, daß „unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen" (mittels der Hiltner-Störmerschen Methode) nur so viel „stickstofffixierende Mikroorganismen" (nicht bloß Azotobacter, wie Heinze ebenfalls fälschlich zitiert) „nachgewiesen werden konnten". Sollte es Heinze wirklich verborgen geblieben sein, daß diese Worte etwas wesentlich anderes besagen als die, welche er mir unterschiebt?

2) l. c. Bd. XII. p. 462.

voraussichtlich Azotobacter zur Vorherrschaft verholfen hätten, Abstand und legte von den Ausgangskulturen direkt Platten an. Verwendet wurde hierzu ein der Lösung entsprechendes Mannit-Bodenextrakt-Agar. Auf diese Weise glaubte ich es am ehesten zu erreichen, daß die gesuchten Arten ihr ohnehin schwaches Stickstoffassimilierungsvermögen während der Isolierung noch leidlich bewahren würden. Vom Azotobacter war, wie zu erwarten, so gut wie nichts zu sehen; auf den zur Isolierung geeigneten Platten (es waren deren 8) kamen mir nur 3 Kolonieen dieser Art zu Gesicht. Im übrigen wurden sämtliche verschieden erscheinende Kolonien abgeimpft, durch möglichst rasch aufeinanderfolgendes wiederholtes Anlegen von Gußkulturen (immer unter Verwendung von Mannit-Bodenextrakt-Agar), gereinigt, nebenher auch durch Ausstrichpräparate ein ungefährer Ueberblick erworben, dann aber, sobald sichere Reinkulturen vorlagen, die Umsetzungsversuche sogleich in Gang gebracht. Denn wenn, wie bekannt, schon Azotobacter seine doch sicher nicht geringe stickstoffbindende Kraft infolge der Züchtung im Laboratorium so rasch verlieren kann, daß dadurch sogar sein Entdecker zu der irrtümlichen Auffassung verleitet wurde, der in Rede stehende Organismus sei in Reinkultur unfähig, Stickstoff zu fixieren, so mußte dies für die isolierten Formen in erheblich verstärktem Maße befürchtet werden. Da es im Interesse der Klarheit der Darstellung jedoch zweckmäßig sein dürfte, die Resultate der erst nach Ingangsetzung der Umsetzungsversuche in Angriff genommenen genaueren Untersuchungen der isolierten Stämme vorauszuschicken, so mag zunächst die Beschreibung der aufgefundenen Bakterien hier ihren Platz finden.

Auf den Mannit-Bodenextrakt-Agarplatten konnten auf den ersten Blick hin zwei Haupttypen von Oberflächenkolonieen unterschieden werden; einerseits rasch wachsende, kreisrunde, erhabene weißliche Tropfen, andererseits langsam wachsende, unregelmäßig (buchtig und zackig) umrandete, flache, durchsichtige, bläulich erscheinende Häutchen, zum Teil mit gelblich gefärbtem Zentrum. Die Tiefenkolonieen stellten sich entweder als kleine, weiße, undurchsichtige, kreisrunde oder wetzsteinförmige Punkte oder als graue rundliche, ausgebreitete, dünne Häutchen dar. Teilweise machte sich an den tiefliegenden Kolonieen Gasproduktion bemerklich. Unter den zuerst genannten weißlichen schleimtropfenähnlichen Bakterienansammlungen ließen sich bei schwacher Vergrößerung die Azotobacter-Kolonieen an ihrer groben Granulierung relativ leicht erkennen. Ohne weiteres unterscheidbar waren auch einige allerdings nicht häufige, große (bereits nach 2 Tagen bis zu 6 mm im Durchmesser haltende), kreisrunde oder ovale, erhabene, nur wenig getrübte, sehr dünnflüssige Kolonieen. Die übrigen makroskopisch kaum zu unterscheidenden Formen des Typus I erwiesen sich bei schwacher Vergrößerung als kreisrunde scharfrandige Scheiben, im Zentrum mehr oder weniger dunkel, grau bis gelbbraun, fein granuliert, am Rande hell, durchscheinend. Teils war die helle Randzone nach innen zu ziemlich deutlich abgesetzt, teils war der Uebergang ein allmählicher; auch wurden gelegentlich radiäre, dunkle, vom Zentrum ausgehende Streifen wahrgenommen. Bei Besichtigung der Ausstrichpräparate ergaben sich, obwohl es sich durchweg um Kurzstäbchen handelte, ebenfalls kleine Unterschiede. Indem allen wahrnehmbaren Differenzen Rechnung getragen wurde, resultierten zunächst außer Azotobacter und der rasch wachsenden, dünnflüssigen Art, 8 Stämme vom ersten und 3 von dem zweiten, dünnen, hautartigen Typus. Zu diesen 13 Stämmen kam sodann

noch eine Abimpfung einer gärenden Tiefenkolonie. Die übrigen Tiefenkolonieen blieben zunächst unberücksichtigt und an der zweiten Serie von Gußkulturen, die sogleich zur Reinigung der erhaltenen Stämme angelegt wurde, zeigte es sich denn auch, daß die teils häutchenartigen, teils punktförmigen Tiefenkolonieen in den Formenkreis der isolierten Stämme hineingehörten.

5 Stämme, die sämtlich dem ersten Typus angehörten und in übereinstimmender Weise Gasbildung im Mannit-Agar hervorriefen, erwiesen sich im Ausstrichpräparat sowie hinsichtlich ihres Wachstums auf den üblichen Nährböden identisch. Zu ihnen gesellte sich auch der aus der gärenden Tiefenkolonie erhaltene Stamm. Die übrigen drei, auf der Platte ganz ähnlich wachsenden Stämme vom Typus I bildeten kein Gas, in zwei von ihnen war deutlich Beweglichkeit der Stäbchen zu konstatieren, die dagegen dem dritten, gleichwie den fünf, bezw. sechs gärenden Kulturen zu fehlen schien. Von den drei in dünnen Häuten auf Mannit-Agar wachsenden Stämmen ließ sich einer bald als Bacterium fluorescens erkennen. Allerdings war die Fluoresceïnbildung und namentlich das Verflüssigungsvermögen ziemlich reduziert. Auf der Platte begann die Verflüssigung der Gelatine erst nach 12—14 Tagen und machte nur geringe Fortschritte, Gelatinestichkulturen blieben sogar 3 Wochen hindurch fest, erst dann begann eine geringe Auflösung der Gelatine, so daß der isolierte Stamm ein gutes Beispiel für das bereits von Matzuschita [1]) beobachtete Uebergehen von Fluorescens in Putidum darstellt, und ich hiernach Lehmann und Neumann beipflichten muß, wenn sie [2]) für eine Zusammenziehung der beiden „Arten" in ein Bact. fluorescens mit forma α liquefaciens und β non liquefaciens plädieren. Die beiden anderen Stämme wuchsen auf Fleisch-Agar und Kartoffel rot, verflüssigten die Gelatine und zeigten auch in allen sonstigen Richtungen das dem Prodigiosus eigentümliche Verhalten.

In seinen wichtigen Abhandlungen über Azotobacter und dessen Begleiter berichtet Beijerinck [3]), daß mit Hilfe der wässerigen 2-proz. Mannitlösung neben Azotobacter noch verschiedene Granulobacter-, Radiobacter- und Aërobacter-Stämme mit großer Regelmäßigkeit erhalten wurden, auch Fluorescens liquefaciens kam sehr gewöhnlich vor.

Die von mir verwendete Lösung differierte von derjenigen Beijerincks nur insofern, als aus früher [4]) angegebenen Gründen nur 1 statt 2 Proz. Mannit und an Stelle von Leitungswasser Bodenextrakt benutzt wurde. Außer Azotobacter chroococcum war, wie bereits mitgeteilt, aufgefunden: Bacterium fluorescens und Bacterium prodigiosum. Für die sechs lebhaft gärenden, sämtlich unbeweglichen Stämme war die Zugehörigkeit zu Beijerincks Genus Aërobacter, speziell Aërobacter aërogenes (Bacillus lactis aërogenes) nicht unwahrscheinlich. Ebenso durfte erwartet werden, daß die drei anderen Stämme des ersten Typus, die in Mannitlösung reichlich Schleim bildeten, dem Radiobacter der genannten Forscher nahe stehen würden. Sicher abwesend war Granulobacter, denn auch die in einigen Fällen beobachteten großen, wenig getrübten, dünnflüssigen Ko-

1) Matzuschita, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVIII. p. 303.
2) Lehmann und Neumann, Bakt. Diagnostik, 3. Aufl. 1904. p. 318.
3) Beijerinck, l. c. Bd. VII. p. 561; B. und van Delden, l. c. Bd. IX. p. 3.
4) l. c. Bd. XII. p. 455, 461.

lonieen bestanden aus nicht sporenbildenden kleinen Stäbchen, die auf Grund ihres mikroskopischen und kulturellen Verhaltens sich dem Bacterium pestis nahe verwandt zeigten. Da infolge dieser verwandtschaftlichen Beziehungen dem isolierten Stamme, dem der Name Bact. agreste beigelegt wurde, eine gewisse medizinisch-bakteriologische Bedeutung nicht abzusprechen sein dürfte, so beabsichtige ich, über seine Eigenschaften in der 1. Abteilung dieses Blattes demnächst ausführlich Mitteilung zu machen.

Von jener Form, die Beijerinck als Aërobacter aërogenes bezeichnet, hat der genannte Forscher zwei Varietäten bei seinen in Gemeinschaft mit van Delden ausgeführten Azotobacter-Versuchen gefunden [1]), von denen die erste in ihrem Verhalten dem typischen Bacillus lactis aërogenes entsprach, während die zweite insofern differierte, als sie in Zuckerlösungen zwar auch Gärung hervorrief, aber an Stelle von Säure Alkali bildete. Durch Kultur in Malzwürze wurde aber das Vermögen der Säurebildung wiederhergestellt. Meine sechs gärenden, unbeweglichen Stämme bildeten ebenfalls (abgesehen von CO_2) zunächst keine Säure in Zuckerlösungen; jedoch trat bei mehreren Wochen fortgesetzter Kultur in 1 Proz. Traubenzucker-Bodenextrakt auch schwache, aber deutliche Säurebildung auf. Die Milch gärt schwach und wird nicht koaguliert; das Verhalten meiner Stämme ist also in dieser Richtung dasselbe, wie das von Bact. caucasicum (Kern) Lehm. und Neum. Im übrigen stimmt aber, wie aus der weiterhin folgenden Zusammenstellung zu ersehen sein wird, ihr mikroskopisches und kulturelles Verhalten durchaus mit demjenigen überein, das nach den Angaben von Lehmann und Neumann [2]) für Bact. pneumoniae Friedländer charakteristisch ist. Aus den Mitteilungen der genannten Autoren geht klar hervor, daß Bact. aërogenes, die sehr zahlreichen „Kapselbakterien" und verschiedene andere „Arten" nur als Anpassungsformen des Bact. pneumoniae gelten können. Die fehlende Milchkoagulierung verbietet es aber meines Erachtens, die in Rede stehenden isolierten Stämme zu Bacterium aërogenes oder gar zu Bact. acidi lactici zu stellen, vielmehr glaube ich, sie unter Bact. pneumoniae einreihen zu müssen. Die Mannitagarkulturen zeigten einen eigentümlichen, an Preßhefe erinnernden Geruch, der auf Fleischagar und Gelatine zwar auch etwas bemerkbar, jedoch bald von einem scharfen, unangenehmen Geruch verdrängt wurde. Lehmann und Neumann erwähnen diese Eigenschaft nicht; sie wurde aber bereits von verschiedenen Autoren [3]) an sehr wahrscheinlich mit Bact. pneumoniae identischen Kapselbakterien beobachtet.

Beijerincks Bacillus radiobacter ist nach den Darlegungen seines Entdeckers eine sowohl morphologisch wie physiologisch außerordentlich variable Art, die in manchen Beziehungen dem B. radicicola nahe steht. Ein Vergleich der Angaben Beijerincks [4]) mit den Befunden, die sich bei der Prüfung meiner drei nicht gärenden, zum Teil beweglichen, auf Mannitagar als weißliche, durchscheinende Schleimtropfen (Typus I) wachsenden Stämme ergaben, machte es mir sehr wahrscheinlich, daß ich es, wenigstens hinsichtlich der beweglichen

1) l. c. Bd. IX. p. 11.
2) l. c. p. 245.
3) Z. B. Fasching und Hamilton, cf. Migula, System der Bakterien. Bd. II. p. 356, 357, 359.
4) l. c. Bd. IX. p. 8—10.

Stämme, in der Tat mit B. radiobacter zu tun hatte. Derjenige Stamm, an dem ich nie Beweglichkeit feststellen konnte — dieselbe ist allerdings, wie schon Beijerinck hervorhob, auch bei Radiobacter inkonstant — zeigte doch gegenüber den beweglichen Stämmen auf Gelatine, Milch und Kartoffel bei schärferem Zusehen deutliche Unterschiede, wie aus der nachfolgenden Uebersicht hervorgeht. Bis auf die zuweilen auftretende rötliche Färbung der Kartoffelkultur stimmt sein Verhalten mit dem des Bact. lactis viscosum (Adametz) Lehm. et Neum.[1]) völlig überein. Ich halte ihn demnach für identisch mit dieser Art[2]).

Was die beiden beweglichen Stämme anlangt, so hatte Herr Prof. Beijerinck die Güte, eine meiner Kulturen in einigen Richtungen zu prüfen und mir mitzuteilen, daß das mikroskopische Bild, sowie das Verhalten in Rohrzucker-Pflanzendekokt und in Malzwürze dasjenige des Radiobacter sei. Von dem intensiven Schleimbildungsvermögen in Mannitlösung, das für Radiobacter charakteristisch sein soll, wurde bereits oben gesprochen. In 1 Proz. Mannitbodenextrakt war dasselbe so kräftig, daß das am Boden des Reagenzglases sich in reichlicher Menge ansammelnde Sediment nach tüchtigem Aufschütteln wenigstens 10 Minuten lang als spiralig gedrehte Säule in der schleimigen Lösung aufrecht stehen blieb. In diesem Bodensatz konnte ich auch verschiedentlich die von Beijerinck beschriebenen „Bakteriensterne“ auffinden. Abweichend verhalten sich meine Stämme nur insofern, als ich auch bei Kultur auf Fleischgelatine keine Denitrifikation in 0,02 Proz. Nitritbouillon beobachten konnte, welche Eigenschaft auch in des Entdeckers Kulturen schwankte[3]), und ferner unterschieden sich die Kolonieen meiner Radiobacter-Stämme auf Mannitagar nicht konstant in ihrem Aussehen, sondern bald wuchs der eine, bald der andere etwas üppiger, das eine Mal etwas weniger, das andere Mal wieder mehr durchscheinend, während in Beijerincks Versuchen diese Merkmale erblich zu sein schienen. Auch konnte ich bei sorgfältigen, wiederholten Vergleichen von Mannitagar-Gußkulturen keine durchgreifenden Unterschiede hinsichtlich des Aussehens der Kolonieen zwischen Bacterium pneumoniae, B. lactis viscosum und B. radiobacter auffinden, wenn auch bei letzterem sehr oft (aber nicht immer) das Zentrum kräftiger weiß gefärbt erschien als die dasselbe umgebende Zone. Ebensowenig ist dies aber der Fall zwischen B. radiobacter und B. radicicola.

Zwei Stämme von Knöllchenbakterien, die ich der Güte des Herrn Prof. Hiltner verdanke, von denen der eine die Klee- der andere die Wickenvarietät repräsentiert, wachsen auf meinen Agarplatten genau wie Radiobacter. Es konnte derselbe Wechsel im Kolonietypus konstatiert werden; bald waren die Klee-, bald die Wickenbakte-

1) L. c. p. 251.

2) Wie aus der folgenden Abhandlung über salpeterassimilierende Bakterien zu ersehen sein wird, neigten meine Viscosum-Stämme auf salpeterhaltigen Nährsubstraten zur Bildung eines zartrosa Farbstoffes. Es ist nicht unmöglich, daß die (infolge ungünstiger Jahreswitterung nicht völlig ausgereiften) Kartoffeln zum Teil nitrathaltig waren.

3) Wie in der folgenden zweiten Abhandlung gezeigt werden wird, assimilieren meine Radiobacter-Stämme Nitrat und Nitrit. Dr. Kuntze ist es dagegen gelungen, aus derselben Erdprobe, allerdings auf ziemlich großen Umwegen, eine Form zu isolieren, die nach ihrem mikroskopischen und kulturellen Verhalten nur als ein etwas degenerierter Radiobacter-Stamm angesprochen werden kann, der aber — freilich auch recht labile — denitrifizierende Eigenschaften erkennen läßt.

rienkolonieen durchscheinender und ebenso war die Größe variabel. Auch in diesen Fällen besaßen die Kolonieen häufig ein deutlich hervortretendes weißes Zentrum.

Ebenso wie auf Mannitagar war das Wachstum auf Mannitbodenextrakt nahezu übereinstimmend; die Schleimbildung war zwar bei Radiobacter und Radicicola beträchtlich kräftiger als bei Bact. pneumoniae, aber die eigentümlichen Bakteroïdenformen stimmten in allen Fällen überein. Allerdings muß hier eingeschaltet werden, daß auch die übrigen oben genannten Arten (Bact. fluorescens, prodigiosum und agreste) in Mannitbodenextrakt ähnliche Hypertrophieen und Plasmadifferenzierungen erkennen ließen, aber nie traten hier Verzweigungen auf wie bei den vier erstgenannten Arten.

Das mikroskopische Verhalten der vier in Rede stehenden Formen ist sehr charakteristisch. Es ist nämlich so wechselnd, daß man zunächst glaubt, Verunreinigungen vor sich zu haben. Nach den Angaben Lehmanns und Neumanns[1]) handelt es sich bei Bact. pneumoniae um kurze Stäbchen (0,6—3,2 μ lang, 0,5—0,8 μ breit) mit abgerundeten Ecken, nicht färbbar nach Gram, im Tierkörper mit dicker Gallertkapsel, die bei gewöhnlicher Färbung ungefärbt bleibt. Sieht man die von Migula reproduzierten[2]) Beschreibungen der zahlreichen „Arten" von Kapselbakterien durch, so muß man zunächst Lehmann und Neumann ohne weiteres recht geben, wenn sie alle diese „Arten" als identisch oder doch äußerst nahe verwandt mit Bact. pneumoniae bezeichnen. Diejenigen Merkmale aber, die bei jenen „Arten" noch einigermaßen als spezifische Charakteristika betont werden könnten, die verschiedene Größe und verschiedene Färbbarkeit nach Gram, fanden sich bei Bact. pneumoniae, lactis viscosum, radiobacter und radicicola an ein und demselben Stamme vereint bei Kultur in Zuckerlösung. Die kleinen (etwa $^1/_2$ μ breiten, $^3/_4$ bis 1 μ langen) hüllenlosen Stäbchen färben sich nicht nach Gram, wohl aber die großen (1—$1^1/_2$ μ breiten, $1^1/_2$—3 μ langen) Formen, während die noch weiter angeschwollenen, gewöhnlich als Bakteroïden bezeichneten Gebilde ebenso wie mit gewöhnlichen Anilinfarben, so auch nach Gram ungleichmäßig tingiert werden. In mehreren Monaten alten Zuckerlösungen fanden sich dann aber vorwiegend wieder die kleinen Gram-negativen Stäbchen. Dieses an meinen Pneumonie-, Viscosum- und Radiobacter-Stämmen genauer verfolgte Verhalten stimmt also völlig mit den interessanten Beobachtungen überein, welche Hiltner und Störmer[3]) an Bact. radicicola gemacht haben. Mir scheint, daß unter Berücksichtigung dieser Tatsachen, die einander widersprechenden Angaben verschiedener Autoren verständlich werden, wonach die in die Verwandtschaft des Bact. pneumoniae gehörigen „Arten", speziell das Rhinosklerombakterium, sowie manche „Kapselbakterien" sich gegenüber der Gramschen Färbung entweder positiv oder (meist) negativ verhielten. Adametz fand sein Bact. lactis viscosum färbbar nach Gram[4]), und ich kann dies insofern bestätigen, als auch mein von Mannitagar auf Fleischagar übertragener Stamm, der sich in diesem Falle als aus relativ großen (1 μ breiten,

1) l. c. p. 245.
2) l. c. p. 349—361 u. 363.
3) Hiltner und Störmer, Arb. a. d. biol. Abt. d. kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. III. p. 257.
4) Cf. Lehmann und Neumann, l. c. p. 251.

$1^1/_2$—3 μ langen) Stäbchen bestehend erwies, sich nicht entfärben ließ. Wohl aber zeigten diese Eigenschaft die, wie gesagt, auch in diesem Falle in 1 Proz. Traubenzucker-Bodenextrakt im Gefolge der „Bakteroïden" auftretenden kleinen Formen.

Was die Färbung mit wässerigen Anilinfarben anlangt, so bleibt bei dem typischen Bact. pneumoniae die Kapsel nach Lehmanns und Neumanns Angaben ungefärbt, bei anderen, nahe verwandten Stämmen, z. B. B. endocarditis capsulatus Weichselbaum und dem Kapselbacillus bei Keratomalacie von Loeb [1]) ist sie dagegen leicht färbbar gefunden worden. Bei meinen Stämmen war letzteres die Regel. Namentlich von Mannitagar erhielt ich oft sehr große (bis 2:3 μ) gleichmäßig gefärbte Formen, stets aber waren in solchen Präparaten auch Exemplare vorhanden, an denen die Hülle merklich blasser gefärbt war, und mitunter fanden sich auch jene Formen, die den Forschern, welche sich mit den Knöllchenbakterien eingehend beschäftigten, nicht entgangen sind, wo nämlich im Zentrum eines mehr oder minder blaß gefärbten ellipsoidischen Gebildes winzige, intensiv gefärbte Körnchen sich in der Ein- oder Mehrzahl vorfanden. Uebrigens ist das Vorkommen dieser Gebilde ebenso wie die Plasmadifferenzierung bereits an verschiedenen Kapselbakterien beobachtet worden, so z. B. beim B. capsulatus chinensis Hamilton und B. endocarditis capsulatus Weichselbaum [2]).

Alle diese Beobachtungen scheinen mir dahin zu führen, daß man sagen muß: Abgesehen von der Beweglichkeit, gestattet das mikroskopische Verhalten keine sichere Unterscheidung von Bact. pneumoniae, lactis viscosum, radiobacter und radicicola. Verschieden ist, wie aus der nachstehenden Uebersicht sich ergibt, allerdings neben der Gärfähigkeit auch das Wachstum auf den üblichen Nährsubstraten; aber die Unterschiede sind doch mehr gradueller als prinzipieller Natur [3]).

(Siehe Tabelle p. 590, 591.)

Vergleicht man die in der Zusammenstellung enthaltenen Angaben über das Verhalten meiner Pneumoniestämme mit der Darstellung Lehmanns und Neumanns, so ergibt sich, daß die Uebereinstimmung eine befriedigende ist. Die Differenzen beschränken sich darauf, daß die Kolonieen auf der Fleischgelatineplatte zuweilen (namentlich auf längere Zeit hindurch aufbewahrten Platten) flach werden und einen feingekerbten Rand annehmen (was auch z. B. bei den pathogenen Kapselbacillen von Nicolaier und Loeb [4]) vorkommt, daß die Kartoffelkultur eine mehr weißliche Farbe besaß [5]), und daß auch in Milch einige Gasblasen entwickelt wurden. Das nur hinsichtlich der Kartoffelkultur differierende Verhalten meines Viscosum-Stammes wurde schon oben berührt.

1) Cf. Migula, l. c. p. 359.
2) Cf. Migula, l. c. p. 357, 359.
3) Für die von Beijerinck gewählte Bezeichnung Bacillus radiobacter und Bacillus radicicola setze ich in Uebereinstimmung mit Prazmowski, sowie Lehmann und Neumann Bacterium radicicola und Bacterium radiobacter.
4) Cf. Migula, l. c. p. 354, 360.
5) Gasblasenentwickelung, die nach Lehmann und Neumann (l. c. p. 246) an den Kartoffelkulturen häufig auftreten soll, konnte ich nicht wahrnehmen. In der früheren, zweiten Auflage ihrer Diagnostik (p. 212) erwähnten die genannten Autoren selbst auch nichts davon.

Vergleichende Uebersicht
über das mikroskopische und kulturelle Verhalten von

	Bact. pneumoniae	Bact. lactis viscosum	Bact. radiobacter	Bact. radi[illegible] cola
Form und Größe:	Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden, zum Teil (besonders von Bouillon) kokkenähnlich. Breite meist 1—1,5—2 μ, Länge 1,5—2—3 μ, selten bis 15 μ lange ungegliederte Fäden. Bei längerer Kultur treten auch kleine Formen von $^1/_2$ μ Breite, $^3/_4$—1 μ Länge auf. In Zucker u. Mannit-Bodenextrakt geschwollene und verzweigte „Bakteroiden“.	Wie Bact. pneumoniae, doch sind die großen Formen (2:3 μ) ziemlich selten.	Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden. Kleinste Formen $^1/_3$—$^1/_2$ μ dick, 1—$1^1/_2$ μ lang, zuweilen schwach gekrümmt. Gewöhnlich $^3/_4$ μ dick, 1—2 μ, selten bis 3 μ lang. Besonders von Fleischagar auch kokkenähnliche Formen. In Mannitlösung starke Bakteroïdenbildung, mitunter sternartige Anhäufungen.	Wie Bact. ra[illegible] bacter.
Beweglichkeit:	Fehlt.	Wie Bact. pneumoniae.	Vorhanden.	Wie Bact. ra[illegible] bacter.
Färbbarkeit:	Mit gewöhnlichen Anilinfarben, sowie nach Gram wechselnd (s. Text).	Wie Bact. pneumoniae.	Wie Bact. pneumoniae.	Wie Bact. pn[illegible] moniae.
Sporenbildung:	Fehlt.	Wie Bact. pneumoniae.	Wie Bact. pneumoniae.	Wie Bact. p[illegible] moniae.
Mannit-Bodenextrakt-Agarplatte:	Makroskopisch: Oberflächenkolonieen: kreisrunde, weißlichgraue, durchscheinende, schleimige Tröpfchen, zuweilen mit deutlich weißem Zentrum; Tiefenkolonieen: weiß, punkt- oder wetzsteinförmig, oder kreisrund, schleierartig ausgebreitet. Mikroskopisch: Oberflächenkolonieen: kreisrund, weißgrau, lichtbrechend, granuliert, Mitte dunkler, gelbgrau, Rand hell, weiß, meist nicht deutlich nach innen zu abgesetzt, selten radiäre Streifung; Tiefenkolonieen: entweder scharfrandig, dunkelgrau, undurchsichtig oder mit undeutlichem Rand, gelbgrau, granuliert.	Wie Bact. pneumoniae.	Wie Bact. pneumoniae, doch scheint das weiße Zentrum häufiger aufzutreten.	Wie Bact. ra[illegible] bacter.
Fleischgelatineplatte:	Gutes Wachstum. Weißlich kreisrunde, erst erhabene, später flacher werdende Tropfen mit einem Stich ins Gelblichgraue. Rand meist glatt, selten gekerbt. Mikroskopisch: Gelbbraun, granuliert, Rand scharf, zuweilen radiäre Streifung. (Die Randkerbung tritt besonders auf mehrere Wochen aufbewahrten Platten hervor.)	Wie Bact. pneumoniae.	Sehr langsames Wachstum. Stark gewölbte, weißliche, glänzende, erst durchscheinende, später undurchsichtige Tröpfchen, nach 14 Tagen bis 2 mm. Tiefenkolonieen: kleine, weißliche, später gelbliche Pünkt[illegible] chen. Mikroskopisch: Oberfläche[illegible] kolonieen: undurchsichtig, gelbgraubra[illegible] Rand scharf, lichtbrechend; Tiefenkolonie[illegible] gelbbraun, fein granuliert, Rand hell[illegible] scharf, deutlich abgesetzt. (Die Platte[illegible] müssen relativ dicht besät werden, da [illegible] verhältnismäßig wenige Kolonieen [illegible] Entwickelung kommen.	Entwickelung äußerst kü[illegible] merlich. Es [illegible] stehen sel[illegible] winzige „St[illegible] rintröpfchen“.

Vergleichende Uebersicht
über das mikroskopische und kulturelle Verhalten von

	Bact. pneumoniae	Bact. lactis viscosum	Bact. radiobacter	Bact. radicicola
annit-gar-trich:	Reichlicher, glasiger, flachbleibender, glattrandiger, glänzender, schleimiger Belag. Kondenswasser wenig getrübt. Weißlicher Bodensatz. Etwas Gärung.	Ueppiger, glasiger, schleimiger, erhabener Belag, mitunter mit weißl. Streifen. Kondenswasser stark getrübt, reichlich. weißlicher Bodensatz.	Wie Bact. lactis viscosum.	Wie Bact. lactis viscosum; die Bakterien entwickeln sich gern zwischen Glaswand und Agar.
eisch-gar-trich:	Sehr gute Entwickelung. Dicker, weißlich-gelblicher, erhabener, glänzender, schleimiger Belag. Rand glatt oder wenig gebuchtet. Kondenswasser getrübt, reichlicher, schleimiger Bodensatz.	Wie Bact. pneumoniae.	Geringere Entwickelung. Farbe mehr grau erscheinend, Belag ziemlich flach bleibend, später stellenweise mit sehr feinen Höckern besetzt.	Sehr dürftige Entwickelung. Zunächst erscheint etwas durchsichtiger Schleim; wird zu einem dünnen, häutchenartigen, grauweißen, feingranulierten Belag längs des Striches.
leisch-elatine-tich:	Kräftige Entwickelung im Stich. Erhabene, weißliche, glänzende Auflage. Typische Nagelkultur. Auflage später ausgebreitet, mit etwas gekerbtem Rande. Oft Gasblase (infolge Zuckergehalts).	Auflage wie Bact. pneumoniae, aber geringere Entwickelung im Stich.	Noch geringere Entwickelung wie bei Bact. lactis viscosum. Auflage dünn, 1—2 mm Durchmesser.	Kaum wahrnehmbare Entwickelung im Stich. Winzige, graue Auflage an der Einstichstelle.
ouillon:	Starke Trübung, schleimiger Ring, etwas Hautbildung von geringer Konsistenz, reichlicher, schleimiger Bodensatz. Bouillon wird dickflüssig. — Kein Indol.	Wie Bact. pneumoniae.	Aehnlich Bact. pneumoniae. Doch geringere Entwickelung (Hautbildung kann unterbleiben). Bodensatz flockig.	Sehr geringe Entwickelung. Wenig flockig schleimiger Bodensatz.
ilch:	Einige Gasblasen. Wird nicht koaguliert, wenig schleimig.	Schleimig, meist (nicht immer) stark fadenziehend.	Nach 2 Wochen beginnt sich das Kaseïn bei schwach alkalischer Reaktion sehr feinflockig abzusetzen, die darüber befindliche helle Zone ist nach 4 Wochen etwa 5 mm hoch.	Wie Bact. radiobacter.
artoffel:	Erhabener, gelblichweißer, glänzender Belag, mit gewelltem Rand, wulstig.	Aehnlich Bact. pneumoniae, doch flacher, zuweilen ziemlich trocken, rötlich, doch wurden diese Kulturen später feuchter, gelblich.	Flacher, glasiger, erst weißlicher, später gelbbrauner Belag. Kartoffel im Anfang stark grau verfärbt.	Wie Bact. radiobacter im Anfangsstadium. Wird (innerhalb 6 Wochen) nicht braun.
annit-oden-xtrakt:	Gärung, flockiger Bodensatz, geringe Schleimbildung.	Zuerst starke Trübung, dann feiner, schleimiger Bodensatz.	Wie Bact. lactis viscosum. Schleimbildung noch stärker.	Wie Bact. radiobacter.

Als Hauptunterschied zwischen Bact. pneumoniae und lactis viscosum einerseits, Bact. radiobacter und radicicola andererseits bleibt das Fehlen bezw. Vorhandensein beweglicher Individuen; und das Gärvermögen scheidet die erstgenannte Art von den drei übrigen. Auf Grund zahlreicher Beobachtungen ist es aber bekannt, wie leicht das Gärvermögen schwinden kann. Speziell für Bacterium pneumoniae findet man bei Lehmann und Neumann[1]) sehr beachtenswerte Angaben. Was aber die Beweglichkeit anlangt, so ist dieselbe auch schon bei Bact. ozaenae, das dem typischen Bact. pneumoniae äußerst nahe steht, beobachtet worden[2]), und andererseits ist deren nur zeitweises Vorhandensein bei Bact. radicicola bekannt; bei Radiobacter liegt der gleiche Fall vor[3]). Daß es nicht angängig ist, auf Grund der Beweglichkeit eine scharfe Sonderung der Bakterien vorzunehmen, ist eine Tatsache, von der man sich von Tag zu Tag mehr überzeugen kann; im vorliegenden Falle würde man zweifellos nächstverwandte Formen voneinander reißen, die natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse aber völlig verwirren.

Zwischen Bact. radiobacter und Bact. radicicola bleibt vorläufig nur der Unterschied, daß erstere „Art" auf Fleischnährböden im allgemeinen besser wächst, letztere in die Wurzeln der Leguminosen einzudringen vermag. Zukünftige Untersuchungen werden darüber zu entscheiden haben, ob die allerdings sehr wahrscheinliche Ueberführung der einen in die andere Form ausführbar ist. Direkte Impfversuche zu Wicken und Klee, die ich mit meinen Radiobacter-Stämmen ausführte, ergaben negative Resultate; allerdings gelangten die in die Kontrollgefäße eingeführten Knöllchenbakterien auch nicht überall zur Wirkung.

Wenn ich bei der Beschreibung der charakteristischen Merkmale der vier Formen etwas sehr ausführlich geworden bin, so mag dies damit entschuldigt werden, daß es mir einerseits darauf ankam, die nahen verwandtschaftlichen Beziehungen, welche diese Formen miteinander verknüpfen, deutlich hervortreten zu lassen, andererseits hoffe ich durch diese, die grundlegenden Forschungen Beijerincks bestätigenden und in einigen Punkten ergänzenden Mitteilungen anderen Forschern das Auffinden und Bearbeiten dieser zweifellos höchst interessanten Gruppe zu erleichtern. Denn sieht man sich weiter in diesem Formenkreis um, so ergibt sich, daß das typische Bacterium pneumoniae gleichsam den Ausgangspunkt für zwei große landwirtschaftlich und technisch wichtige Gruppen bildet. Schwindet die Säurebildung und verringert sich die Intensität des Wachstums auf Fleischnährböden, so gelangt man allmählich zu Bacterium radicicola; die Verstärkung des sauren Charakters führt zu jenen Essigbakterien, die entsprechend ihrem Wachstum auf festen Nährböden dem Bact. pneumoniae nahestehen. Im ersteren wie im letzteren Falle treten häufig vielgestaltige, ent-

---

1) l. c. p. 250.

2) cf. Lehmann und Neumann, l. c. p. 248, Anm.

3) In Präparaten, die Dr. Kuntze unter Benutzung der von ihm angegebenen Modifikation des Verfahrens von van Ermengem (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. Orig. p. 555) für mich anfertigte, war für Bact. radiobacter mit voller Sicherheit das Vorhandensein von 6 langen peritrichen Geißeln festzustellen. Meist bleibt allerdings nur eine polare Geißel erhalten, so daß ein Irrtum in dieser Hinsicht leicht unterlaufen kann. Mit B. radicicola scheint es sich ebenso zu verhalten wie mit Radiobacter. Leider wurden trotz mehrfacher Wiederholung keine einwandfreien Geißelpräparate der Knöllchenbakterien erlangt.

weder auf Hypertrophie oder auf Reizwirkung zurückzuführende anormale Formen auf[1]), die wenigstens teilweise das Stadium lebhafter Aktivität markieren und denen die Fähigkeit zur Rückkehr in die normale Stäbchenform in weitem Umfange erhalten bleibt.

Eine eingehende vergleichende Bearbeitung all dieser Formen dürfte sicher wertvolle Bereicherungen unserer Kenntnisse bringen. Das aber kann auf Grund der besprochenen Untersuchungen als feststehend hingestellt werden, daß die Knöllchenbakterien zweifellos in die Gruppe der Kapselbakterien gehören, als deren typischer Vertreter Bacterium pneumoniae Friedländer anzusehen ist. In Anbetracht dieser Sachlage ergibt es sich auch, daß es nicht angängig ist, den Knöllchenbakterien als „Rhizobium" oder unter irgend welchem anderen Namen eine exzeptionelle Stellung im System anzuweisen. Es mag ja immerhin sein, daß die „Bakteroiden" „Bakteriensterne" u. s. w. Gebilde darstellen, die die Bakterien mit den Pilzen verbinden (die ersteren als „Sporangien" zu bezeichnen, wie dies Hiltner[2]), Hartleb und Heinze[3]) tun, trotzdem in ihnen, wenn man von den phantastischen Visionen Hartlebs absieht, noch nie Sporen aufgefunden wurden, läuft allerdings meinem Sprachempfinden zuwider), es muß aber dabei berücksichtigt werden, daß diese eigentümlichen Formen speziell auch die Verzweigungen durchaus nicht ein spezifisches Merkmal der Knöllchenbakterien darstellen, sondern vielmehr in der ganzen Pneumoniegruppe weit verbreitet sind und auch in anderen Gruppen nicht fehlen. Lehmann und Neumann haben ja diesen Tatsachen schon durch Aufstellung der Gruppe Coryne- und Mycobacterium teilweise Rechnung getragen. Daß ich, wie nebenbei bemerkt sein mag, der von Heinze[4]) kürzlich produzierten, an die Zeiten Halliers gemahnenden Hypothese, daß Azotobacter die „normale Bodenform" von Bacterium radicicola sei, nicht beipflichten kann, bedarf wohl keiner näheren Ausführung.

Mit sämtlichen isolierten Arten wurden, wie eingangs hervorgehoben, sofort nach Erlangung von Reinkulturen Umsetzungsversuche in Gang gebracht, zu denen auch die beiden Knöllchenbakterienstämme herangezogen wurden. Zur Verwendung gelangte wieder der von mir regelmäßig benutzte Bodenextrakt + 0,05 Proz. K_2HPO_4, dem ich aber an Stelle von Mannit 1 Proz. Dextrose zusetzte, da nach Beijerincks Beobachtungen[5]) gerade bei dem Uebergehen von Mannit- auf Dextrosenährsubstrat relativ hohe Stickstoffernten zu erwarten sind.

Die Lösung wurde teils zu je 100 ccm in 500 ccm Erlenmeyer-Kolben (mit seitlicher Tubulatur), teils zu je 50 ccm in 200 ccm-Rundkolben (ebenfalls mit seitlicher Tubulatur) oder in große Reagenzgläser gefüllt. Die Versuche mit den größeren Flüssigkeitsmengen wurden bei verschiedenen Temperaturgraden geführt, diejenigen mit den kleineren

1) Kossel und Overbeck (Kolle-Wassermanns Handbuch. Bd. II. 1903. p. 488) erhielten bei Züchtung von Bact. aërogenes auf 3-proz. Kochsalzagar lange, in der Mitte bauchig angeschwollene Fäden. Aehnliche Gebilde, die zum Teil an die Essigbakterien erinnerten, konnte ich bei Kultivierung meines Pneumoniestammes auf dem gleichen Substrat beobachten.

2) Hiltner, l. c. p. 261, hier auch Besprechung der Behauptungen Hartlebs.

3) Heinze, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 81.

4) Heinze, l. c. p. 79.

5) l. c. Bd. IX. p. 7.

Quantitäten sollten dazu dienen, einen etwaigen Einfluß des Aufbewahrens in flacher oder hoher Schicht festzustellen. Die Kolben mit seitlicher Tubulatur wurden unter Verwendung von Glaskapillaren geimpft. Das Impfmaterial wurde von Strichkulturen entnommen, die auf Mannit-Bodenextrakt-Agar angelegt waren.

Nach Verlauf von 3 Wochen wurde die Reinheit der Kulturen in der Weise geprüft, daß jedesmal von der am besten entwickelten Parallelkultur eines jeden Stammes Gußkulturen auf Mannit-Bodenextrakt-Agar angelegt wurden, und ferner wurde auf die An- oder Abwesenheit von Zucker mittels Fehlingscher Lösung geprüft. Eine Verunreinigung der Kulturen konnte in keinem Falle bemerkt werden. Die Prüfung mit Fehlingscher Lösung ergab in allen Fällen positive Resultate, relativ am schwächsten war die Reaktion bei Bact. pneumoniae, wohl infolge der durch diesen Organismus stets hervorgerufenen ziemlich lebhaften Gärung.

Unter Zusatz von 1,5 g Eisenstaub und 10 ccm Schwefelsäure (1,825 spez. Gew.) wurde die Lösung in den Versuchskolben selbst (nur der Inhalt der Reagenzgläser wurde in Erlenmeyer-Kolben übergespült) durch Eindampfen auf ein kleines Volumen eingeengt, gleichzeitig die etwa vorhandenen geringen Nitrit- und Nitratmengen[1]) reduziert, und der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl-Wilfarth ermittelt.

Folgende Stickstoffmengen in Milligramm wurden gefunden:

	je 100 ccm bei 20°		je 100 ccm		je 50 ccm	
	a	b	bei 10°	bei 30°	flache Schicht	hohe Schicht
steril	2,66	2,80	2,80	2,80	1,68	1,54
Bact. pneumoniae	4,20	3,92	3,50	3,64	2,10	2,52
„ lactis viscosum	3,08	3,50	3,78	3,78	2,24	2,24
„ radiobacter (Stamm I)	2,80	3,50	3,64	3,64	2,10	2,24
„ radiobacter (Stamm II)	3,36	3,50	3,78	3,78	2,52	2,52
„ radicicola (Klee)	3,36	3,64	3,08	4,34	2,24	2,10
„ radicicola (Wicke)	2,80	3,22	2,80	4,34	1,96	2,24
„ prodigiosum	4,48	3,50	3,78	3,36	2,38	2,52
„ fluorescens	2,94	2,80	.	.	.	.
„ agreste	2,80	2,94	.	.	.	.
Azotobacter chroococcum	3,64	2,80	2,80	4,48	2,38	2,10

Aus diesen analytischen Befunden geht klar hervor, daß, abgesehen von Bact. fluorescens und Bact. agreste, sämtliche zum Versuche herangezogene Arten unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen sich als befähigt erwiesen, die Lösung an Stickstoff zu bereichern. Absolut betrachtet, sind ja allerdings die Stickstoffgewinne recht bescheiden, aber das mag zum großen Teil an den Versuchsbedingungen liegen. Von Azotobacter ist es nach den Arbeiten von Gerlach und Vogel[2]) sowie von Freudenreich[3]) sicher und von Radicicola entsprechend seiner Tätigkeit in den Knöllchen sehr wahrscheinlich, daß sie im günstigsten Falle bedeutend mehr leisten können. Die Ermitte-

1) Der frisch bereitete Bodenextrakt ergab mit Diphenylamin keine oder eine nur sehr schwache Bläuung. Während des mehrwöchigen Aufbewahrens wurde aber stets etwas Nitrit aus der Laboratoriumsluft absorbiert.

2) Gerlach und Vogel, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 669.

3) Freudenreich, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. X. p. 514.)

lung der optimalen Leistung der anderen Arten muß zukünftigen Untersuchungen überlassen bleiben. Im vorliegenden Falle konnten ja allerdings schon auf Grund der eingangs geschilderten Eigenschaften des Ausgangsmateriales keine bedeutenden Effekte erwartet werden.

Schon der bloße Augenschein ließ sehr bald erkennen, ob in dem betreffenden Kolben Stickstoffbindung stattfand oder nicht. In den zuerst angesetzten Versuchen bei 20° hatte sich bereits nach 8 Tagen in den meisten Kolben eine ziemlich ansehnliche feinflockige Bakterienmasse angesammelt. Zum Teil (besonders bei Bact. radiobacter und radicicola) war auch die übrige Flüssigkeit stark getrübt. Nur in den mit Bact. fluorescens und agreste beimpften Gefäßen war kaum irgendwelche Veränderung wahrzunehmen; ein ganz dünner häutchenartiger Ueberzug bedeckte die Glaswandungen, soweit dieselben von der Flüssigkeit benetzt waren. Die Unfähigkeit dieser Stämme, es in der benutzten Lösung zu einer einigermaßen ansehnlichen Entwickelung zu bringen, trat schon nach kurzer Zeit so deutlich in die Erscheinung, daß ich davon Abstand nahm, sie in die übrigen, einige Tage später in Gang gesetzten Versuche (bei 10 und 30°, in flacher und hoher Schicht) mitaufzunehmen.

Spezifische Einflüsse, die auf die verschieden hohe Temperatur oder auf die Höhe der Flüssigkeitsschicht zurückzuführen wären, lassen sich infolge der an sich recht niedrigen Zahlen nicht erkennen. Ein günstiger Einfluß der höheren Temperatur tritt nur etwa insofern hervor, als in diesem Falle die Stickstoffbindung regelmäßiger verlaufen ist als bei den niedrigeren Wärmegraden. Denn sowohl bei Radiobacter, Radicicola wie Azotobacter ist bei 10 und 20° die Entwickelung einige Male ausgeblieben, ohne daß dafür ein bestimmter Grund angegeben werden könnte.

Nicht uninteressant ist es, daß auch die Knöllchenbakterienkulturen einen Stickstoffgewinn erbrachten. Zwar steht derselbe zurück hinter dem, den Mazé[1]) in Leguminosenextrakten erzielte, aber es hat doch auch hier, wie in anderen Fällen, der Bodenextrakt sich wiederum günstiger erwiesen, als die bisher geprüften künstlichen Nährlösungen[2]). Hoffentlich wird sich aber bei der Durchführung der für die nächsten Jahre geplanten eingehenden Bearbeitungen der verschiedenen Stickstoffumsetzungen ein Ersatz von genau bekannter Zusammensetzung für denselben finden lassen, damit ich diesen ziemlich unbestimmten Faktor, zu dem ich vorläufig meine Zuflucht nehmen mußte, aus meinen Untersuchungen ausschalten kann. Dem innegehaltenen Verfahren glaube ich es verdanken zu müssen, daß ich das Vorkommen der stickstoffbindenden Fähigkeit bei den dem Bact. radicicola nahe verwandten Arten feststellen konnte. Ich muß allerdings sagen, daß ich zunächst sehr überrascht war, als sich die von dem Mannit-Agar abgeimpften Reinkulturen sowohl in der stickstoffarmen Zuckerlösung wie auch auf den Fleischnährböden kräftig entwickelten. Namentlich das Bact. pneumoniae zeigt ja auf Fleischagar und Bouillon eine besonders üppige Entwickelung, und erst dadurch, daß wiederholtes Zurückgehen auf Mannit-Agar-

1) Mazé, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897 und 1898.

2) Wie oben in der vergleichenden Uebersicht mitgeteilt wurde, wuchsen die Knöllchenbakterien auch auf Mannit-Bodenextrakt-Agar sehr üppig. Die Angabe Hiltners (l. c. p. 256), daß die Knöllchenbakterien nur auf Nährmedien, die Leguminosenextrakte enthalten, zu einer wirklich üppigen Vermehrung gelangen, bedarf demnach einer Einschränkung.

Gußkulturen ohne Ausnahme das Vorhandensein von Reinkulturen bestätigte, ließ ich mich überzeugen, daß also auch wohlbekannte, auf den üblichen Nährböden sehr gut gedeihende Bakterienarten unter Umständen zur Stickstoffassimilation befähigt sind. Die Angaben Berthelots dürften demnach wohl eingehenderer Nachprüfung wert sein, zumal die eine, wenigstens einigermaßen beschriebene[1]) Art (Bacille A) nach ihrer Größe, ihrem Wachstum auf Bouillon und Gelatine, wo sie „mamelons saillants, visibles à l'oeil nu, d'aspect gras“ bildete, soweit hiernach ein Urteil möglich ist, dem Bact. pneumoniae nicht fernzustehen scheint. Allerdings war ja das von Berthelot innegehaltene Isolierungsverfahren (mehrmaliges Abimpfen in Bouillon) ein scheinbar wenig erfolgverheißendes, indessen sprechen doch manche neuere Beobachtungen dafür, daß jedenfalls nicht in dem Grade ein Antagonismus zwischen Stickstoffbindungsvermögen und dem Verhalten gegenüber auf Fleischnährböden besteht, wie man anzunehmen berechtigt war, als nur erst Bact. radicicola und Clostridium pastorianum als stickstofffixierende Organismen bekannt waren. Azotobacter chroococcum gelangt ja ebenfalls zuweilen auf Fleischagar und Bouillon zu ansehnlicher Entwickelung und bekanntlich hat Beijerinck[2]) auch schon bei einem frisch isolierten Mesentericus-Stamm Stickstoffbindung beobachtet. Da gegenwärtig über die geeigneten Bedingungen für Wachstum und Stickstoffbindung noch so wenig bekannt ist, so scheint allerdings auf Verwendung möglichst frisch isolierter Kulturen zu derartigen Versuchen besonderes Gewicht gelegt werden zu müssen, und andererseits dürfte, worauf bereits Berthelot hingewiesen hat, die Gegenwart einer kleinen Quantität einer geeigneten Stickstoffverbindung zur Einleitung des Assimilationsprozesses zweckmäßig sein. In der Beijerinckschen nahezu stickstofffreien wässerigen Mannitlösung zeigten meine Stämme entweder überhaupt keine oder nur eine äußerst dürftige Entwickelung und eine Stickstoffzunahme konnte nicht nachgewiesen werden, was mit Beijerincks Erfahrungen insofern übereinstimmt, als dieser Autor bei alleiniger Verwendung von Radiobacter und Azotobacter ebenfalls negative oder zweifelhafte Resultate erhielt. Konvalewski[3]), dessen Arbeit mir allerdings im Original nicht zugänglich ist und deren Zuverlässigkeit mir nach dem Referat einigermaßen zweifelhaft erscheint, gibt an, sogar in Bouillon merkliche Stickstoffanreicherung beobachtet zu haben. Unter den von ihm mit positivem Ergebnis geprüften Arten erwies sich ein Subtilis- und ein Prodigiosus-Stamm in besonderem Maße befähigt. Für die letztere Angabe könnten meine Beobachtungen als Bestätigung dienen.

Da Beijerinck in Mischkulturen die höchsten Stickstofferntenerzielte, so beimpfte ich ebenfalls einige Kolben mit Kombinationen der geprüften Arten. Es wurde nach dreiwöchiger Versuchsdauer (bei 20°) unter Einhaltung des oben angegebenen Verfahrens pro 100 ccm 1 Proz. Dextrose-Bodenextrakt an Stickstoff in Milligramm gefunden:

steril				2,80
Azotobacter	+	Bact.	pneumoniae	3,64
„	+	„	lactis viscosum	3,22
„	+	„	radiobacter	3,36
„	+	„	prodigiosum	3,50
„	+	„	agreste	2,80

1) Berthelot, Chimie végétale et agricole I. 1899. p. 390.

2) l. c. Bd. IX. p. 33.

3) Konvalewski, Russ. Arch. f. Path. Bd. VI. 1898. p. 251. Ref. Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Bd. XXV. p. 771.

Ein Vergleich mit den oben mitgeteilten Zahlen zeigt, daß keine merklichen Unterschiede vorhanden sind. Die fördernde Wirkung, die in Beijerincks Versuchen dessen Aërogenes und Radiobacter auf Azotobacter und dieser auf jene ausübte, kam in der von mir benutzten günstigeren Lösung nicht in Betracht. Denn wie eine genaue Betrachtung der von dem genannten Forscher erlangten Resultate unter Berücksichtigung der in der vorliegenden Abhandlung besprochenen Untersuchungsbefunde meines Erachtens ergibt, war Beijerinck allerdings mit der Annahme im Recht, daß die von ihm benutzten Aërogenes- und Radiobacter-Stämme ebensogut wie Azotobacter an der Stickstofffixierung aktiv beteiligt waren. Ist die Zusammensetzung der zu den Versuchen verwendeten Flüssigkeit eine etwas günstigere als die der recht stickstoffarmen wässerigen Mannit- oder Dextroselösung, oder sind im übrigen die Versuchsbedingungen geeignetere, dann kann nicht nur, wie dies von Gerlach und Vogel (l. c.) festgestellt wurde, Azotobacter, sondern eben auch Radiobacter und Bact. pneumoniae, das, wie oben gezeigt wurde, wohl mit Beijerincks Aërobacter aërogenes identisch oder doch sicher nahe verwandt ist, selbständig Stickstoff fixieren.

Schließlich wurde noch, um einem berechtigten Einwand zu begegnen, daß nämlich die in der Mehrzahl der beimpften Kolben nachweisbare Stickstoffzunahme event. auf saure oder alkalische Stickstoffverbindungen der Laboratoriumsluft zurückzuführen sei, einige Versuche in der Weise durchgeführt, daß die Versuchsgefäße ein mittels Natronlauge und Schwefelsäure gereinigter Luftstrom passierte[1]). Der Stickstoffgehalt in Milligramm betrug nach dreiwöchiger Versuchsdauer:

steril	2,66
Bacterium pneumoniae	3,64
„ lactis viscosum	3,50
„ radiobacter, Stamm I	3,08
„ „ „ II	3,50
„ radicicola, var. trifoliarum	3,08
„ „ var. viciae	3,36

Die Zahlen sind ungefähr die gleichen wie in denjenigen Kolben, in die auch gebundener Stickstoff aus der Luft hineingelangen konnte. Daß wie in den obigen, so auch in den früher besprochenen Versuchen wirklich elementarer Stickstoff fixiert wurde, ist hiermit zwar nicht erwiesen, aber doch sehr wahrscheinlich. Uebrigens scheint mir auch das früher erwähnte Verhalten des bekanntlich relativ gut mit Ammon, Nitrat oder Nitrit als alleinige Stickstoffquelle auskommenden Fluorescens dafür zu sprechen, daß in den nur mit Watte verschlossenen Gefäßen unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen die in der Luft vorhandenen Stickstoffverbindungen keine bemerkbare Rolle gespielt haben.

---

1) Bezüglich der zu diesem Versuche benutzten Einrichtung sei auf die in meiner Arbeit über die Kalkstickstoffzersetzung (l. c. Bd. XIV. p. 95 u. 394) mitgeteilte ausführliche Beschreibung verwiesen. Aenderungen waren im vorliegenden Falle nur insofern vorgenommen, als zu den Waschflaschen mit konzentrierter Schwefelsäure noch solche mit Natronlauge hinzukamen, andererseits die bei der Kalkstickstoffzersetzung zum Auffangen des verdunstenden Ammoniaks nötigen Säurevorlagen fortgelassen wurden.

2. Ueber salpeterassimilierende Bakterien.

Gegenüber den bisher gewonnenen allerdings auch noch mancher wichtigen Ergänzung bedürfenden Kenntnissen über den Denitrifikationsvorgang müssen diejenigen als verhältnismäßig recht spärlich bezeichnet werden, die sich auf jene Umsetzungen beziehen, bei der infolge der Tätigkeit gewisser Bakterien der Stickstoff des Nitrats oder Nitrits restlos in organische Bindung übergeführt wird. Es ist in letzter Zeit vielfach üblich geworden, die an dem zuletztgenannten Prozeß beteiligten Mikroorganismen als „eiweißbildende" zu bezeichnen; indessen dürfte es wohl zweckmäßig sein, diese Bezeichnung durch eine ältere und prägnantere zu ersetzen, d. h. die betreffenden Organismen als „salpeterassimilierende" zu bezeichnen[1]. Zur „Eiweißbildung" können die verschiedensten Ausgangsmaterialien verwendet werden, ob aber der aus anorganischer in organische Bindung übergeführte Stickstoff wirklich stets quantitativ gerade in Form von „Eiweiß" niedergelegt wird, dürfte wohl mit Recht bezweifelt werden. Denn der von Gerlach und Vogel[2] zur Stütze ihrer Ansicht, daß der Salpeterstickstoff restlos in „unlösliches Eiweiß" übergehe, mitgeteilte Versuch, wonach bei der Filtration der betreffenden Lösung in derselben kein löslicher Stickstoff aufzufinden war, scheint mir die Frage noch völlig offen zu lassen, in welcher Form der Stickstoff in den abfiltrierten Bakterienzellen vorhanden gewesen ist.

Die Salpeterassimilation, unter den höheren Pflanzen so verbreitet, darf ja allerdings, was die Bakterien anlangt, als Ausnahmefall gelten, indessen scheint ihr doch, wenigstens im Hinblick auf die beiden wichtigsten landwirtschaftlichen Betriebsfaktoren, Boden und Dünger, nach den bisherigen Erfahrungen eine verhältnißmäßig größere Bedeutung zuzukommen als der Denitrifikation. Speziell bei jenen überraschenden Ergebnissen, die P. Wagner u. a. in Vegetationsgefäßversuchen bei gleichzeitiger Anwendung von Salpeter und reichlichen Mengen organischer Substanz erhielten, und die in etwas übereilter Weise als auf Denitrifikationsvorgängen beruhend hingestellt wurden, haben die salpeterassimilierenden Mikroorganismen unbestreitbar eine nicht unwichtige Rolle gespielt. Im Acker selbst dürfte allerdings unter der gewöhnlich innegehaltenen Art der Bearbeitung und Düngung auch die Wirkung dieser letztgenannten Mikroben an sich recht gering sein, und nur ausnahmsweise wird den Kulturpflanzen auf diesem Wege eine größere Nitratmenge entzogen werden, als bei einigermaßen feuchter Witterung durch Sickerwässer denselben entführt wird.

Zwar findet naturgemäß eine Salpeterassimilation in mehr oder minder großem Umfange stets auch dann statt, wenn man in einer Lösung, in welcher Stickstoff nur in Form von Nitrat enthalten ist, durch Einimpfung einer geeigneten Bakterienspecies den Denitrifikationsprozeß oder die Nitratreduktion (die Rückverwandlung des Nitrats in Nitrit und Ammoniak) hervorruft, gleichwohl dürfte es zweckmäßig und infolgedessen berechtigt sein, ebenso wie man den stets mit Stickstoff-

1) Jensen, H. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 402, 459. Der an der erstgenannten Stelle einmal vorkommende Ausdruck „Stickstoffassimilation", den Lemmermann (Krit. Studien üb. Denitrifikationsvorgänge, p. 13) als „wenig glücklich" bezeichnet, ist nur ein Schreib- oder Druckfehler. S. 459 steht richtig „Salpeterassimilation" wie auch Jensen in Lafars Handbuch (Bd. III. p. 190) diese Bezeichnung wieder aufgenommen hat.

2) Centralbl. f. Bakt.. Abt. II. Bd. VII. p. 613.

verlusten endenden Denitrifikationsvorgang, trotzdem er ebenfalls einen Reduktionsprozeß darstellt, von der Nitratreduktion im engeren Sinne bei der keine Stickstoffverluste auftreten, unterscheidet, neben diese beiden als dritte wohlcharakterisierte Umsetzung die Salpeterassimilation zu stellen, obgleich auch bei dieser zunächst eine Reduktion des Nitrats, wenn vielleicht auch nicht in allen, so doch sicher in gewissen Fällen stattfindet. Von H. Jensen[1]) sind diese drei Umsetzungen schon richtig präzisiert worden. Wenn es aber auch, wie aus weiterhin mitzuteilenden Beobachtungen hervorgeht, allerdings zweifellos früher oder später gelingen wird, denitrifizierende oder nitratreduzierende Stämme in salpeterassimilierende umzuwandeln, so erscheint es doch aus praktischen Gründen empfehlenswert, die drei distinkten Bezeichnungen beizubehalten[2]).

Wie gesagt, sind die bisher erworbenen Kenntnisse über diejenigen Bakterien, welche den Salpeterstickstoff restlos assimilieren, ziemlich gering. Beijerinck[3]) stellte diese Eigenschaft für die Knöllchenbakterien und Azotobacter fest. Jensen[4]) wies durch quantitative Umsetzungsversuche das Vorhandensein salpeterassimilierender Arten in den Faeces von Karnivoren und Omnivoren nach, das Gleiche stellten Gerlach und Vogel[5]) für Stalldünger und Erde fest. Die letztgenannten Autoren arbeiteten zwar mit Reinkulturen, indessen ist mit keinem Wort die Art des Isolierungsverfahrens angedeutet, und die Beschreibung der gefundenen Arten ist derart summarisch, daß ein Wiederfinden und Erkennen der in diesem Falle vorhanden gewesenen Species völlig unmöglich ist. Und gerade die Isolierung der in Rede stehenden Bakterien scheint nicht sehr leicht zu sein. Wenigstens ist es mir bisher nicht gelungen, bei Anhäufungsversuchen die denitrifizierenden Arten sicher auszuschließen, da ja eben auch diese allerdings meist nur in ziemlich beschränktem Umfange zur Salpeterassimilation befähigt sind. Gerlach und Vogel haben ebenfalls schon[6]) darauf hingewiesen, daß in Salpeterlösungen ihre „eiweißbildenden" Bakterien durch die denitrifizierenden Arten fast völlig unterdrückt wurden, und nachdem ich mich, wie bereits in der voraufgehenden Abhandlung über die stickstofffixierenden Bakterien erwähnt wurde, habe überzeugen können, daß innerhalb ein und derselben Bakterienspecies (Bact. radiobacter) denitrifizierende und salpeterassimilierende Stämme vorkommen, ist meine kürzlich geäußerte Hoffnung[7]), daß es gelingen möchte, eine nur für salpeterassimilierende Bakterien geeignete Nährlösung zu finden, allerdings sehr herabgemindert.

Als geeignetste Nährlösung erwies sich bei meinen bisherigen Versuchen Bodenextrakt + 1 Proz. Glyzerin + 0,1 Proz. $NaNO_3$ + 0,05 Proz. K_2HPO_4. Daß gerade Glyzerin für die Salpeterassimilierung besonders geeignet ist, ging aus Beobachtungen hervor, die Richards und

1) l. c. p. 402.
2) Beiläufig sei auch andererseits an jene Befunde Egunows (cit. von Sewerin, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897. p. 505) erinnert, denen zufolge eine von der Oberfläche einiger Samen isolierte Species in flacher Schicht nitratreduzierend, in hoher dagegen denitrifizierend wirkte.
3) Beijerinck, Bot. Zeitung 1890. p. 841; Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 575.
4) l. c.
5) l. c. p. 612.
6) l. c. p. 619 ff.
7) l. c. Bd. XIV. p. 9.

Rolfs[1]) sowie Krüger und Schneidewind[2]) gemacht haben. Die Lösung wurde in flacher Schicht (ca. 1 cm hoch, in Erlenmeyer-Kolben) aufbewahrt, zunächst mit 10 Proz. Erde geimpft und nach Verschwinden der Diphenylaminreaktion (gewöhnlich nach Verlauf von 8 Tagen) einige Platinösen übertragen und diese Abimpfungen fünfmal wiederholt. Gasentwickelung fand regelmäßig in den Ausgangskulturen statt, selten oder gar nicht trat dieselbe dagegen bei den weiteren Uebertragungen auf. Trotzdem können auch in diesem Falle denitrifizierende Bakterien sich in der Lösung erhalten, wie aus den weiterhin mitzuteilenden Befunden hervorgeht.

Zur Isolierung der durch diesen Anhäufungsversuch aus der Erde gewonnenen Arten wurde ein Agar, das mit der gleichen Nährlösung zubereitet war, verwendet. Aehnlich wie bei der Isolierung der stickstofffixierenden Bakterien ließen sich auch in diesem Falle zwei Haupttypen von Kolonieen unterscheiden: große, erhabene, runde Schleimtropfen und dünne, mehr oder weniger durchscheinende, unregelmäßig umrandete Häutchen.

Vom ersten Typus wurden fünf Stämme abgeimpft; drei von ihnen erwiesen sich bei eingehender Prüfung als mit Bact. radiobacter, zwei mit Bact. lactis viscosum identisch. Da beide Species in der voraufgehenden Abhandlung ausführlich besprochen wurden, so kann ich mich an dieser Stelle auf den Hinweis beschränken, daß das Wachstum dieser Arten auf dem salpeterhaltigen Nährboden ein noch üppigeres ist als auf dem Mannitagar. Die schleimigen Tropfen erreichten einen Durchmesser von reichlich 1 cm, sie waren auf dem Salpeteragar undurchsichtig (nicht durchscheinend wie auf Mannitagar), die zu Bact. lactis viscosum gehörigen nahmen mit zunehmendem Alter oft, aber nicht regelmäßig einen hellrosa Farbenton an, und das Substrat wurde bei längerem Aufbewahren im Umkreis der Kolonieen bräunlich verfärbt. Die häutchenartigen Kolonieen wurden nach einiger Zeit gelblich; es resultierten zwei Stämme, von denen der eine als eine nicht verflüssigende Rasse von Bact. fulvum (Zimm.) L. et N. anzusehen ist, denn abgesehen von dem mangelnden Gelatineverflüssigungsvermögen zeigt er in allen Richtungen diejenigen Eigenschaften, die nach Lehmanns und Neumanns Darstellung[3]) für Bact. fulvum charakteristisch sind. Die. ja auch sonst nicht konstante Fähigkeit, die Fleischpeptongelatine zu verflüssigen, scheint gerade in der Gruppe, in die Bact. fulvum gehört, besonders schwankend zu sein. Der zweite Stamm muß meines Erachtens zu Bact. turcosum (Zimm.) L. et N. gestellt werden. Auch hier ist es so, daß mein Stamm bisher keine Neigung zur Gelatineverflüssigung zeigt, die Kolonieen bleiben ohne einzusinken obenauf liegen, die von Lehmann und Neumann[4]) untersuchten beiden Kulturen sinken ein, ohne zu verflüssigen, und nach den Angaben von Migula[5]) ist schwaches Verflüssigungsvermögen vorhanden. Die Individuen des isolierten Stammes sind 0,3—0,5 μ breit und 0,8 bis 1,5 μ lang, also etwas größer als die von Lehmann und Neumann beobachteten (0,2—0,3 μ dick, 0,3—1,5 μ lang), und die Oberflächen-

1) Techn. Quart. Bd. IX. p. 40. Ref. Kochs Jahresber. Bd. VII. p. 218.
2) Landw. Jahrb. Bd. XXX. 1901. Heft 4. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 930 spez. 935.
3) Lehmann und Neumann, Bakt. Diagnostik. 3. Aufl. 1904. p. 300.
4) l. c. p. 296.
5) Migula, System der Bakterien. Bd. II. 1900. p. 937.

kolonieen auf Gelatine zeigen nicht selten einen hellen gekräuselten Rand, was Migula ebenfalls als Charakteristikum aufführt, bei Lehmann und Neumann aber nicht erwähnt ist. Die übrigen Merkmale stimmen mit Lehmanns und Neumanns Befunden überein. — Als achter Stamm wurde ein typisches Bact. fluorescens L. et N. isoliert.

Sämtliche Kulturen wurden, nachdem sie durch wiederholtes Anlegen von Gußkulturen als sicher rein befunden waren, in folgende Lösungen eingeimpft, die zu je etwa 10 ccm in Reagenzgläser portioniert waren:

1) Bodenextrakt + 1 Proz. Glycerin + 0,1 Proz. $NaNO_3$ + 0,05 Proz. K_2HPO_4
2) „ + 1 „ „ + 0,1 „ $NaNO_2$ + 0,05 „ „
3) „ + 1 „ „ + 0,1 „ $NaNO_3$ + 0,05 Proz. KH_2PO_4
4) „ + 1 „ „ + 0,1 „ $NaNO_2$ + 0,05 „ „
5) Lösung nach Gerlach und Vogel (l. c. p. 612).

Bact. fulvum entwickelte sich auf keiner dieser Lösungen in ansehnlichem Maße; die übrigen Stämme gediehen am besten auf Lösung 1, etwas weniger gut auf Lösung 5, wesentlich geringer war die Entwickelung auf Lösung 2, noch schlechter auf Lösung 3 und so gut wie gar nicht wahrnehmbar auf Lösung 4. Gasbildung trat nur bei Bact. fluorescens auf. Dagegen verschwand in Lösung 1, auf der besonders Bact. radiobacter, weniger Bact. lactis viscosum kräftige Deckenbilduug hervorrief, die Diphenylaminreaktion nach 1 bezw. $1^1/_2$ Monat. Bei Bact. fluorescens war sie schon nach 10 Tagen verschwunden, bei Bact. turcosum dagegen auch noch nach Verlauf von 2 Monaten deutlich, wenn auch nicht gerade stark vorhanden. Demnach schien also unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen nur Bact. fluorescens zu denitrifizieren, während Bact. radiobacter, lactis viscosum und turcosum als salpeterassimilierende Organismen angesprochen werden konnten. Bact. fulvum war vermutlich nur ein zufälliger Begleiter.

Da in den in flacher Schicht durchgeführton Versuchen mit Rohkulturen die Diphenylaminreaktion meist nach 8 Tagen verschwand, so war zu prüfen, ob auch die in den Reagenzgläsern erheblich langsamer arbeitenden Reinkulturen bei reichlicherer Luftzufuhr den Nitratstickstoff ebenfalls in kürzerer Frist in organische Bindung überführen würden. Sie wurden deshalb in je 50 ccm der (auch zu den Anhäufungsversuchen benutzten) Lösung 1 geimpft, die sich teils in 300 ccm Erlenmeyer-Kolben, teils in großen Reagenzgläsern ($2^1/_2$: 20 cm) befand. Die Prüfung mit Diphenylamin ergab folgende Resultate:

(Siehe Tabelle p. 602.)

Nach Verschwinden der Diphenylaminreaktion bezw. nach Verlauf von 4 Wochen wurde der organische Stickstoff nach Kjeldahl-Wilfarth und eventuell der noch vorhandene Nitratstickstoff in alkalischer Lösung nach Reduktion mittels Zink und Eisen ermittelt. Es resultierten pro 50 ccm folgende Befunde[1]:

(Siehe zweite Tabelle p. 602.)

1) Zu diesen Zahlen ist zu bemerken: Daß sich für die sterilen Kolben ein höherer Gesamtstickstoffgehalt (durch Addition des Nitrat- und organischen Stickstoffs) berechnet als für die beimpften, ist nur durch das Untersuchungsverfahren bedingt. Die für die sterilen Gefäße ermittelte Zahl ist nämlich deshalb um etwa 0,4 mg zu hoch ausgefallen, weil, wie früher (l. c. Bd. XII. p. 459; Bd. XIV. p. 90) hervorgehoben wurde, bei jeder Destillation 0,28—0,56, meist 0,42 mg N zuviel gefunden wurden. Bei zweimaliger Destillation (Nitrat- und organischer Stickstoff) verdoppelt sich natur-

Geimpft mit:	Parallele	in flacher Schicht	in hoher Schicht
Bact. radiobacter (Stamm A)	a	R. verschwunden nach 12 Tagen	R. noch vorhanden nach 4 Wochen
	b	desgl.	
Bact. radiobacter (Stamm B)	c	R. verschwunden nach 12 Tagen	desgl.
	d	desgl.	
Bact. lactis viscosum (Stamm A)	a	R. verschwunden nach 14 Tagen	desgl.
	b	R. verschwunden nach 17 Tagen	
Bact. lactis viscosum (Stamm B)	c	R. noch vorhanden nach 4 Woehen	desgl.
	d	desgl.	
Bact. fluorescens	a	R. verschwunden nach 8 Tagen	R. verschwunden nach 8 Tagen
	b	desgl.	
Bact. turcosum	a	R. noch vorhanden nach 4 Wochen	R. noch vorhanden nach 4 Wochen
	b	desgl.	

	Parallele	in flacher Schicht			in hoher Schicht		
		Nitrat-N mg	organ. N mg	Gesamt-N mg	Nitrat-N mg	organ. N mg	Gesamt-N mg
steril	—	8,40	1,40	9,80	8,40	1,40	9,80
Bact. radiobacter (Stamm A)	a	—	9,38	9,38	4,76	4,06	8,82
	b	—	9,38	9,38			
Bact. radiobacter (Stamm B)	c	—	9,38	9,38	4,48	4,34	8,82
	d	—	9,45	9,45			
Bact. lactis viscosum (Stamm A)	a	—	9,38	9,38	5,18	3,64	8,82
	b	—	9,45	9,45			
Bact. lactis viscosum (Stamm B)	c	?	7,84	?	5,46	3,50	8,96
	d	?	7,98	?			
Bact. fluorescens	a	—	4,90	4,90	—	2,80	2,80
	b	—	4,76	4.76	—	2,94	2,94
Bact. turcosum	a	?	6,86	?	5,74	3,22	8,96
	b	?	6,72	?			

gemäß dieser Fehler. Während aber von den sterilen Kolben zwei zur Salpeterbestimmung und zwei andere zur Ermittelung des organischen Stickstoffs verwendet werden konnten, mußte die in den Reagenzgläsern befindliche beimpfte Lösung, in der, abgesehen von Bact. fluorescens, innerhalb 4 Wochen der Salpeterstickstoff nur teilweise verschwand, jedesmal sowohl zur Salpeterbestimmung als auch zur Ermittelung des organischen Stickstoffs verwendet werden. Da hierzu die Lösung durch Filtrieren von der Bakteriensubstanz befreit wurde, so entging damit das in je 50 ccm vorhandene Quantum an löslichem organischen Bodenstickstoff (ca. 1 mg) der Bestimmung, und die betreffenden, für Bact. radiobacter, lactis viscosum und turcosum bei Kultur in hoher Schicht berechneten Gesamtstickstoffzahlen müssen demnach, um mit den in flacher Schicht festgestellten Befunden vergleichbar zu werden, um (1—0,4) = 0,6 mg erhöht werden. Während in den Reagenzgläsern sich die Bakterien an der Oberfläche der klaren Flüssigkeit als feste Decke angesammelt hatten, und das Filtrieren infolgedessen anstandslos gelang, fanden sie sich in flacher Schicht fein verteilt in der Flüssigkeit, so daß eine klare Lösung beim Filtrieren durch Papier nicht zu erlangen war. Es wurde deshalb von der Salpeterbestimmung in diesen Fällen Abstand genommen und nur der organische Stickstoff nach Kjeldahl ermittelt.

Die Versuchsergebnisse bestätigen, daß auch bei Verwendung von Reinkulturen unter geeigneten Versuchsbedingungen eine relativ rasch verlaufende und restlose Nitratassimilation stattfinden kann. Bemerkenswert erscheint mir die Tatsache, daß in den mit Bact. fluorescens durchgeführten Versuchen nur in den Reagenzgläsern Schaumbildung auftrat, dagegen konnte trotz täglicher Kontrolle in den Erlenmeyer-Kolben auch nicht eine Gasblase wahrgenommen werden. Trotzdem ist auch in diesem Falle reichlich die Hälfte des zugesetzten Nitratstickstoffs in Verlust geraten, also Denitrifikation auch ohne Schaumbildung möglich. Die Salpeterassimilation war in flacher Schicht etwa doppelt so stark als in hoher [1]).

Einige Versuche wurden, um den Einfluß der Temperatur auf die in Rede stehende Umsetzung wenigstens einigermaßen festzustellen, bei 10, 20 und 30° in Erlenmeyer-Kolben + je 50 ccm Lösung durchgeführt. Die Resultate waren die folgenden:

Beimpft mit	Temp.	Die Diphenylaminreaktion war	50 ccm Lösung enthielten		
			Nitrat-N	organ. N	Gesamt-N
Bact. radiobacter (Stamm A)	10°	verschwunden nach 28 Tagen	—	9,38	9,38
	20°	„ „ 14 „	—	9,38	9,38
	30°	„ „ 8 „	—	9,45	9,45
Bact. lactis viscosum (Stamm B)	10°	noch vorhanden nach 28 Tagen	?	6,44	?
	20°	desgl.	?	7,91	?
	30°	desgl.	?	8,12	?
Bact. fluorescens	10°	verschwunden nach 9 Tagen	—	4,76	4,76
	20°	„ „ 8 „	—	4,76	4,76
	30°	„ „ 5 „	—	4,48	4,48
Bact. turcosum	10°	noch vorhanden nach 28 Tagen	?	6,72	?
	20°	desgl.	?	6,86	?
	30°	desgl.	?	7,28	?

Eine fördernde Wirkung höherer Temperatur war danach zwar vorhanden, aber nicht bedeutend.

Da es sich bei den bisher besprochenen Versuchen ergeben hatte, daß die unter geeigneten Umständen auch zur Stickstofffixierung befähigten Bakterienarten bei der Nitratassimilation sowohl der Zahl wie der Leistung nach prävalierten, erschien es mir nicht uninteressant, auch jene Stämme auf ihre salpeterassimilierende Fähigkeit zu prüfen, die in der in der ersten Abhandlung angegebenen Weise erhalten wurden. Auch sie wurden zunächst in Reagenzgläser + ca. 10 ccm der am besten für diesen Zweck geeigneten Lösung 1 (Bodenextrakt + 1 Proz. Glycerin + 0,1 Proz. $NaNO_3$ + 0,05 Proz. K_2HPO_4) geimpft. Am frühesten, nämlich schon nach Verlauf von 8 Tagen, ergab die Diphenylaminreaktion einen negativen Befund bei den mit Bact. agreste be-

1) Dieses Ergebnis erklärt die Beobachtung von Krüger und Schneidewind (Ldw. Jahrb. 1901. p. 644), der zufolge in stark gelockerter Erde (bei Glycerinzusatz) erheblich mehr Salpeter in organische Form übergeführt wurde als in festlagerndem Material.

impften Gläsern. Nach 10 Tagen war sie bei Bact. pneumoniae verschwunden, nach 4 bis 6 Wochen, ebenso wie in den oben mitgeteilten Versuchen bei Bact. radiobacter und lactis viscosum; bei Bact. radicicola war dagegen auch noch nach 8 Wochen deutliche Blaufärbung vorhanden, und Bact. prodigiosum hatte es unter den innegehaltenen Versuchsbedingungen nur zu einer kräftigen Trübung der Flüssigkeit und Bildung eines rötlichen Sediments gebracht, hinsichtlich der Produktion an organischer Substanz stand aber diese Species weit hinter den übrigen Stickstoffassimilanten zurück[1]).

Mit Bact. agreste und Bact. pneumoniae wurden auch quantitative Versuche in der gleichen Art, wie die bisher referierten, durchgeführt.

Beimpft mit	Parallele	Die Diphenylaminreaktion war verschwunden	an organ. N waren vorhanden mg
Bact. agreste	a	nach 6 Tagen	9,45
	b	desgl.	9,52
Bact. pneumoniae	a	nach 6 Tagen	9,38
	b	desgl.	9,38

Bact. pneumoniae zeigte gegenüber den anderen nitratassimilierenden Arten ein abweichendes Verhalten insofern, als sich bei dieser Species nach dem Verschwinden der Diphenylaminreaktion mittels Nesslers Reagens das Vorhandensein von Ammoniak nachweisen ließ, was in allen übrigen Versuchen nicht der Fall war. Die Reaktion verschwand aber innerhalb der nächsten 8 Tage, und das benutzte Reagens wurde nun nur noch durch den Bakterienschleim gelb, weiterhin schwarz gefärbt. Bact. pneumoniae zeigte in dieser Richtung ein ähnliches Verhalten wie Azotobacter chroococcum[2]). Auf Grund der Ammoniakbildung aber kann Bact. pneumoniae als Beispiel dafür gelten, daß in deutlich ausgesprochener Weise Nitratreduktion und Salpeterassimilation zum Teil nebeneinander verlaufen, zum Teil einander folgen können. Darüber, ob sich, was allerdings ziemlich wahrscheinlich ist, auch unter den sonstigen zahlreichen nitratreduzierenden Arten solche finden lassen werden, die zu einer vollständigen Salpeterassimilation veranlaßt werden können, müssen zukünftige Untersuchungen entscheiden.

(Schluß folgt.)

1) Rothe hat ebenfalls kürzlich für einen Prodigiosus-Stamm ein schwaches Nitratassimilierungsvermögen festgestellt (cf. Stutzer und Rothe, Fühlings landw. Zeitg. 1904. p. 629). Subtilis assimilierte in diesen Versuchen noch etwas stärker als Prodigiosus. Keine der geprüften Arten verzehrte aber das Nitrat vollständig.

2) Beijerinck, l. c. Bd. IX. p. 19.

Vermindert die Zentrifugierung die Bakterienzahl in der Milch?

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der Kaiserlich-Russischen Akklimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von **S. A. Severin.**

Die Frage nach dem Einflusse der Milchzentrifuge auf die absolute Bakterienmenge in der zentrifugierten Milch und auf die Verteilung ihrer Bakterienflora im Rahm, in der Magermilch und im Zentrifugenschlamme hat bereits eine kleine Literatur aufzuweisen, und, so begrenzt auch diese Frage ist, kann man dennoch nicht behaupten, daß dieselbe bereits erschöpft sei und daß die einzelnen Forscher in ihren Untersuchungsresultaten mehr oder weniger vollkommen übereinstimmten. Unter dem Einfluß der Zentrifugalkraft verteilt sich die Milch in der Zentrifuge, wie bekannt, in drei Schichten: Die Schmutzpartikelchen als schwererer Ingredient der Milch werden an die Peripherie geschleudert und bleiben an den Wänden der Zentrifuge hängen, dann kommt ein Molkenring, während der zentrale Teil der Zentrifuge vom Rahm als leichterem Bestandteil der Milch eingenommen wird. Die Bakterienkeime unterliegen ebenfalls der Einwirkung der Zentrifugalkraft; Individuen mit höherem spezifischen Gewicht, als die Milch, werden an die Peripherie geschleudert, die mit niedrigerem werden entsprechend nach dem Zentrum der Zentrifuge versetzt. Es muß noch hinzugefügt werden, daß eine derartige Verteilung der Keime offenbar einigermaßen kompliziert wird durch die Abhängigkeit davon, ob der Bakterienkeim Eigenbewegung besitzt oder nicht. Doch nicht die Zentrifugalkraft allein ist es, welche den Bakterienkeimen in der in der Zentrifuge befindlichen Milch ihren Platz anweist; hier spielt offenbar der Attraktions- und Adhäsionsprozeß der Bakterienkeime an die größeren Schmutzpartikel und an die Fettkügelchen noch eine Rolle, und dieser Umstand vermag, den theoretischen Vorstellungen zuwider, die erwartete Verteilung der Bakterienkeime in der Zentrifugenmilch sehr schroff zu verändern. Die Schmutzpartikelchen tragen bei ihrem Drange zur Peripherie nicht nur selbst eine gewisse Menge von Keimen in sich, sondern reißen auf ihrem Wege auch die ihnen begegnenden Bakterienkeime mit, wenn diese auch leichter sind. Dementgegen konzentrieren die Fettkügelchen, welche auf sich Keime tragen und ebenfalls auf ihrem Wege die begegnenden Keime, auch wenn diese ein höheres spezifisches Gewicht haben als die Milch, mitreißen, die Bakterien in entgegengesetzter Richtung — in dem zentralen Teil der Zentrifuge — in der Rahmschicht. Die Kombination aller dieser Faktoren, der Zentrifugalkraft, des spezifischen Gewichts der Bakterien, ihrer Beweglichkeit oder Unbeweglichkeit, Adhärenz und Attraktion, bringt eben einen gewissen Wechsel in der Verteilung der Bakterien beim Zentrifugieren der Milch zuwege. Aus den Untersuchungen Bangs (Milch-Zeitung. 1891. No. 71) an Tuberkelbacillen in Milch geht hervor, daß der Zentrifugenschlamm bedeutend mehr Tuberkelbacillen enthielt, als die Magermilch; dasselbe gilt für Rahm. Scheurlen fand bei seinen Versuchen mit anderen pathogenen Bakterien ebenfalls im Zentrifugenschlamm eine bedeutende Bakterienmenge, aber besonders

viele erwiesen sich im Rahm und bedeutend weniger in der Magermilch. Unter anderem gibt Autor nachstehendes Beispiel von Verteilung der Bakterien in zentrifugierter, von der Berliner Molkerei Bolle gekaufter Milch: 1 l Milch enthielt 2050 Millionen Keime, davon wurden 200 ccm Rahm gewonnen mit 1700 Millionen Keimen, 800 ccm Magermilch mit 560 Millionen und 0,6 ccm Milchschmutz mit 18 Millionen Keimen. Niedestadt (Kochs Jahresbericht 1893) ist auf Grund seiner Versuche der Ansicht, daß 75 Proz. der Milchbakterien in den Rahm übergehen und bloß 25 Proz. in der Magermilch und im Schlamm nach bleiben. Wyss (Centralbl. f. Bakter. Bd. VI. 587) sagt, daß bei seinen Versuchen der Zentrifugenschlamm 7mal mehr Bakterien enthielt, als die zentrifugierte Milch. Marpmann (Milch-Zeitung. 1903. No. 41) führt Daten an, welche bedeutende Schwankungen im spezifischen Gewichte und in der chemischen Zusammensetzung der Tuberkelbacillen konstatieren, welche leichter und schwerer als Milch sein können und deswegen nicht nur im Zentrifugenschlamm, sondern auch in Magermilch und Rahm vorhanden sein können.

Ein in bedeutendem Maße abweichendes Resultat bezüglich der Zunahme der Bakterienmenge im Rahm auf Kosten der Magermilch liefern die Untersuchungen von Backhaus und Cronheim (Kochs Jahresbericht. 1897). Hier 2 Beispiele: Aus 1 l Milch mit 1910 Millionen Keimen wurden durch Zentrifugierung 333 ccm Rahm mit 581 Millionen und 660 ccm Magermilch mit 966 Millionen Keimen gewonnen; aus 1 l anderer Milch mit 3420 Millionen wurden 429 ccm Rahm mit einem Gehalt von 1336 Millionen und 572 ccm Magermilch mit 1507 Millionen Keimen gewonnen; die Bakterienzahl in 1 g Zentrifugenschlamm betrug 262 und 302 Millionen. Auf diese Weise gehen nach den Ermittelungen von Backhaus und Cronheim in den Rahm lange nicht so viel Bakterien über, wie es bei den Versuchen von Scheurlen und Niederstadt konstatiert worden war. Mit den Resultaten von Backhaus und Cronheim stimmen auch die Befunde von Rolet (Kochs Jahresbericht. 1901) überein. Nach den Ermittelungen Russels (Kochs Jahresbericht. 1897) ist der Rahm in rohem sowohl wie auch in pasteurisiertem Zustande stets reicher an Bakterien als die zugehörige Vollmilch. Das sind eigentlich diejenigen Daten, welche wir hinsichtlich der Frage der Verteilung der Bakterien bei der Milchseparierung angetroffen haben. Uns jedoch interessiert hier die Sache von anderer Seite. Wir haben uns bei unserer Untersuchung die Aufgabe gestellt, zu entscheiden, ob die Zentrifugierung der Milch in bakteriologischem Sinne einen reinigenden Einfluß hat, wie diese Reinigung jetzt in den Molkereien in gewöhnlichen Separatoren geschieht mit geringer Modifikation derselben, bestehend darin, daß der vom Separator ausgeschiedene Rahm und die Magermilch vor ihrem Austreten abermals durchgemischt werden und den Separator wieder als Vollmilch verlassen.

Die von uns aufgeworfene Frage muß eigentlich sonderbar erscheinen. denn wie kann man an dem positiven Arbeitsresultat des Separators als Reiniger zweifeln, wenn zusammen mit dem von demselben ausgeschiedenen Schmutz zweifellos ein Teil der Bakterien fortgeschafft wird; indes die wenigen existierenden experimentellen Daten in dieser Richtung veranlassen unwillkürlich die aufgestellte Frage zu ventilieren.

Nach den Ermittelungen, beispielsweise von Kister und Liefmann (Milch-Zeitung. 1904. No. 8), erfüllt der Alfa-Laval-Separator als Reiniger seine Rolle sehr vollkommen; Milchportionen von 1 l mit

einem Schmutzgehalt von 3—11 mg vor der Zentrifugierung weisen nach der Zentrifugierung nur Spuren von Schmutz auf; oder z. B. Milch, welche 17,5 mg enthielt, zeigte nach der Zentrifugierung bloß 1 mg Schmutz; andererseits schwankte nach Ermittelungen derselben Autoren die Menge der Keime in 1 mg Schmutz aus verschiedenen Milchportionen von 41000—5000000. Demnach wurde zugleich mit dem Schmutz entschieden ein Teil der Bakterien ausgeschieden; freilich ist dieser Teil, im Vergleich zu der allgemeinen Bakterienmenge, welche in 1 l Milch enthalten war, sehr gering und ist in praktischer Hinsicht natürlich nicht von Bedeutung, doch alles in allem muß dennoch die Milch nach der Zentrifugierung eine gewisse Abnahme der Zahl der Bakterienkeime aufweisen. Indessen beweisen die Ermittelungen derselben Forscher in beträchtlicher Mehrzahl der Fälle gerade das Gegenteil, d. h. die Milch verläßt den Apparat nach der Zentrifugierung mit einem noch größeren Keimgehalt, als vor dieser Prozedur. Die nämliche Erscheinung haben noch im Jahre 1899 Dunbar und Kister (Milch-Zeitung. 1899. p. 787) konstatiert, aber an einer Zentrifuge von anderer Konstruktion, und zwar an der Zentrifuge Heinzes, in welcher, abgesehen von der Ablagerung größerer Schmutzpartikel auf den Wänden der Zentrifuge, die Milch von der Zentrifugalkraft noch durch ein festes Gewebe durchgetrieben wird. Die von ihnen ermittelten Ziffern sprechen fast durchweg von sehr starker Vermehrung der Keimzahl in der Milch nach der Zentrifugierung. Schließlich sind wir in unserer letzten, gemeinschaftlich mit meinem Laboratoriumsgehilfen Budinoff unternommenen und unlängst in dieser Zeitschrift veröffentlichten Arbeit („Ein Beitrag zur Bakteriologie der Milch") ebenfalls dieser sehr sonderbaren Erscheinung begegnet; in sämtlichen Fällen ohne Ausnahme zeigte die Milch nach der Separierung eine sehr schroffe Vermehrung der Bakterienflora. Es frägt sich nun, welche Ursachen liegen dieser Erscheinung zu Grunde? Kister und Liefmann halten sich bei dieser Frage gar nicht auf und beschränken sich nur auf die Konstatierung der Facta, dementgegen versuchen es Dunbar und Kister, diese Frage zu beleuchten, ohne dieselbe jedoch durch irgend welche experimentellen Daten zu bestätigen. Sie sind der Ansicht, daß in roher Milch vor der Zentrifugierung nicht selten Bakterien in Knäuel verklebt vorkommen, welche bei der Analyse der Milch auf diese Weise Kolonieen nicht von einzelnen Keimen ergeben, sondern von ganzen Gruppen, während bei der Zentrifugierung diese Knäuel in einzelne Keime zerfallen, welche dadurch, daß jede einzelne eine Kolonie liefert, natürlich eine bedeutend größere Kolonieenzahl ergeben, als im ersteren Fall. Doch mit einer solchen Interpretierung, wenn sie auch offenbar von der Wahrheit nicht weit entfernt ist, kann man nicht ganz einverstanden sein. Wenn eine Kolonie aus einer Gruppe von Bakterien entsteht, angenommen von 3—5 Exemplaren, so muß man annehmen, daß die Struktur einer derartigen Kolonie, besonders in ihrem frühesten Alter, einigermaßen eigentümlich sein muß und die Aufmerksamkeit des Forschers auf sich lenken würde; solche Kolonieen haben auch den Autoren der obengenannten Arbeit nicht entgehen können. Ich habe auf Grund meiner persönlichen Beobachtungen niemals auf den Aussaaten Kolonieen konstatiert, welche einen Verdacht, daß sie nicht von einem Keime stammten, erweckt hätten. Wie dem auch sei, haben die Ursachen dieser Erscheinung, als auch mir die Gelegenheit sich bot, derselben zu begegnen, mein Interesse erweckt, und ich beschloß, zur Klärung derselben einige Experimente anzustellen. Unter anderem habe

ich es unterlassen, noch die Untersuchung von Wilkens zu erwähnen (Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XVI. Refer.), welcher konstatiert: 1) den Uebergang des bedeutend größeren Teiles der Bakterien der Vollmilch in den Rahm bei der Zentrifugierung der Milch und zweitens, was besonders interessant ist, hat der Autor im Gegensatz zu den oben erwähnten Untersuchungen über die Vermehrung der Keimzahl in der Milch nach der Zentrifugierung eine Verringerung der Bakterienzahl nach der Separierung gefunden, d. h. die Milch wird reiner nicht nur dadurch, daß ein Teil der Bakterien in den Schlamm übergeht, sondern daß überhaupt die Gesamtzahl der Bakterien nach der Separierung kleiner wird als vordem. Demnach geht ein Teil der Bakterien, nach der Ansicht des Autors, unter dem Einfluß des Zentrifugierungsprozesses zu Grunde. Leider hatte ich nicht die Möglichkeit, diese Arbeit im Original zu lesen, um mir über den Grad von Exaktheit des vom Verf. gewonnenen so eigentümlichen Resultats ein Urteil zu bilden.

Ich wende mich nun meinen eigenen Untersuchungen zu. Die Mehrzahl der Versuche haben wir an der Alfa-Lavalschen Zentrifuge von großen Dimensionen, welche während der Arbeit als Reiniger 2 Kiloliter pro Stunde durchläßt, d. h. derselben Zentrifuge, an welcher wir die ersten in der obengenannten Arbeit, „Ein Beitrag zur Bakteriologie der Milch", publizierten Resultate erhalten haben. Wie damals, so haben wir auch jetzt dieselbe in der Mustermolkerei der Gebrüder Blandoff in Moskau während ihrer üblichen Arbeit, im Verein mit sämtlichen anderen Apparaten, untersucht, d. h. also unter denjenigen Verhältnissen, unter welchen in der genannten Molkerei alltäglich die Behandlung der Milch geschieht.

Der erste Versuch, mit welchem wir hier beginnen, wurde am 8. Dezember 1903 ausgeführt. Die ersten Milchproben wurden zur Untersuchung entnommen, nachdem die Milch 15 Minuten in Behandlung war; eine Probe wurde unmittelbar vor der Zentrifuge entnommen, an der Eintrittsstelle der Milch aus dem Erhitzer in die Zentrifuge, die zweite Probe sofort nach dem Austritt der Milch aus der Zentrifuge; die Aussaaten wurden auf Fleischpepton-Agar-Agar gemacht; die zweite Probe wurde nach weiteren 15 Minuten an den nämlichen Stellen entnommen; ausgesät wurde auf Fleischpeptongelatine. Danach war die Behandlung der Milch bereits zu Ende, und es wurde Milch aus einem anderen Reservoir der Behandlung unterzogen; hier wurden abermals Proben an denselben Stellen zur Untersuchung entnommen, aber nur 5 Minuten nach Beginn der Arbeit; ausgesät wurde auf Milchgelatine. Das Resultat der bakteriologischen Analyse war folgendes:

	In 1 ccm Milch Keime	
	vor der Zentrifugierung	nach der Zentrifugierung
Fleischpeptonagar	749 116	1 882 070
Fleischpeptongelatine	1 051 009	1 706 994
Milchgelatine	604 388	1 466 524

Somit erwies sich die Milch nach dem Zentrifugieren im Durchschnitt um 110 Proz. reicher an Keimen als vor dem Zentrifugieren. Im Verein mit den in der Arbeit, „Ein Beitrag zur Bakteriologie der Milch", veröffentlichten Daten hinterblieb bereits kein Zweifel, daß ein solches Resultat beim Zentrifugieren der Milch kein Zufall sei, sondern eine sehr konstante Erscheinung, welcher irgend eine bestimmte Ursache zu Grunde liegt, deswegen machten wir uns nun daran, die Sache ins klare zu bringen. In den in der schon genannten Arbeit, „Ein Beitrag

zur Bakteriologie der Milch“, publizierten Versuchen haben wir bereits genügend anschaulich dargelegt, daß diese Ursache nicht in der Verunreinigung der Milch seitens der Apparate und Leitungswege, welche von der Milch passiert werden, enthalten sei; die sorgfältigste Reinigung des ganzen von der Milch passierten Weges ergab dasselbe Resultat, die Milch verließ die Apparate mehr verunreinigt als sie vor der Reinigung war; ebenso konnte solch ein Effekt nicht erzielt werden infolge von Fortpflanzung der Bakterien, denn der Zeitraum, innerhalb dessen die Milch die Zentrifuge passiert, ist ein zu geringer, als daß die betreffende Erscheinung zu stande kommen könnte. Also woran liegt es? Uns schwebte der Gedanke vor, die Ursache der Verunreinigung in der Luft zu suchen, d. h. wir vermuteten, daß bei Ein- und Austritt der Milch aus der Zentrifuge eine beträchtliche Luftmenge eingesogen wird, welche eben die Milch verunreinigt; doch gab es Erwägungen auch gegen diese Annahme: 1) wurden bei sorgfältiger Untersuchung der Zentrifuge während ihrer Arbeit keine solche Stellen entdeckt, durch welche eine starke Einsaugung von Luft bemerkbar wäre, 2) wird die Molkerei, was Sauberkeit anbetrifft, so sorgfältig gehalten, die Luft in derselben ist so angefeuchtet, daß die ausgesprochene Vermutung noch weniger wahrscheinlich erschien; in der Arbeit, „Ein Beitrag zur Bakteriologie der Milch“, besitzen wir sogar Daten, welche die Unmöglichkeit einer solchen Verunreinigung bestätigen, doch wurde die Milch nach Austritt aus dem Pasteurisator, bei der Passage über große, offene Flächen, im ganzen bloß mit Tausenden von Keimen pro 1 ccm verunreinigt, darum müßte man eine enorme Durchlüftung der Zentrifugenmilch zugeben, um diejenige Verunreinigung zu erreichen, welche wir nach dem Zentrifugieren konstatieren, und welche auf Hunderttausende und Millionen Keime pro 1 ccm Milch herauskommt, 3) erscheint sehr sonderbar folgendes Faktum: Aus sämtlichen von uns bei Versuchen an der Zentrifuge erhaltenen Ziffern geht hervor, daß, wenn die Milch vor dem Zentrifugieren Hunderttausende Keime enthalten hat, die Verunreinigung auch nach dem Zentrifugieren Hunderttausende zählt, wenn dieselbe aber Millionen Keime enthalten hat, so findet auch die Verunreinigung ihren Ausdruck in Millionen. Unwillkürlich erwacht da der Verdacht, was das für ein sonderbar konstantes Verhältnis sei zwischen den Ziffern der Verunreinigung aus der Luft und denen, welche die Milchflora vor dem Zentrifugieren zum Ausdruck bringen, eine Erscheinung, welche mit der Zulässigkeit der Vorstellung über Verunreinigung durch die Luft sich schlecht verträgt. Nichtsdestoweniger beschlossen wir, ungeachtet aller dieser Kontraindikationen, einen Versuch nach der der früher ausgesprochenen Vorstellung entsprechenden Richtung anzustellen.

Der Versuch wurde am 16. Februar 1904 angestellt; die ganze Zentrifuge wurde mit einer Schicht zuvor sterilisierter Watte eingehüllt; die Uebergangsstelle der Milch aus dem Erhitzer in die Zentrifuge wurde ebenfalls mit Watte kuppelartig verdeckt, schließlich wurde ein gleicher Schutz vor der Luft auch an der Austrittstelle der Milch aus der Zentrifuge und der Eintrittsstelle derselben in den Pasteurisator angebracht. Auf diese Weise konnte die Luft nirgends durchdringen, ohne vorher den Wattefilter zu passieren; die Milchproben zur Analyse wurden an denselben Stellen entnommen, wie früher, aber bereits nur in einem von allen Seiten durch eine Watteschicht geschützten Raume. Die Proben wurden 7 Minuten nach Beginn der Arbeit entnommen,

danach wurde bei vollem Arbeitsgange der Apparate die Watte allerorts entfernt und 7 Minuten nach letzterem abermals Milchproben zur Untersuchung entnommen. Ausgesät wurde auf Fleischpeptonagar und -Gelatine und auf Milchagar. Das Resultat war folgendes:

			ohne Watte	mit Watte
Fleischpeptonagar	vor	der Zentrifugierung	1 377 946	1 786 365
"	nach	" "	2 220 024	1 898 662
Milchagar	vor	" "	1 801 743	1 915 386
"	nach	" "	2 754 701	1 673 879
Fleischpeptongelatine	vor	" "	1 638 447	1 948 670
"	nach	" "	1 638 447	1 607 598

Danach hat die nicht durch Watte geschützte Zentrifuge ein bedeutendes Plus an Bakterien ergeben; in der aus derselben ausgetretenen Milch macht dieser Zuwachs durchschnittlich 56 Proz. aus, während dementgegen die durch Watte geschützte Zentrifuge um 9 Proz. weniger Bakterien ergab, als ihrer in der Milch vor dem Eintritt in die Zentrifuge vorhanden waren. Anscheinlich hinterließ ein so klares Ergebnis keinen Zweifel hinsichtlich der Verunreinigungsquelle der Milch; diese Quelle war die Luft. Doch dieses, wie sich in der Folge erwiesen hat, auffällige Resultat hat uns nur irregeleitet; wir begannen, unablässig die Stelle zu suchen, durch welche die Luft in die Milch eindringt und sie verunreinigt. Nach dieser Richtung haben wir auch die folgenden Versuche angestellt:

Am 11. März 1904 wurde nur eine Zentrifuge mit Watte bedeckt, ein Watteschutz an der Eintrittstelle der Milch in die Zentrifuge und an der Austrittsstelle aus der Zentrifuge wurde nicht angebracht. Wir waren fest überzeugt, daß, falls die Milch aus der Luft verunreinigt wird, die Verunreinigung offenbar in der Zentrifuge selbst stattfinde, mit der durch die Verbindungsstellen im äußeren Mantel eindringenden Luft. Unter anderem wurden beim voraufgegangenen Versuch sowohl als auch bei sämtlichen anderen in der Zentrifuge, abgesehen von der allgemeinen Behandlung, sämtliche, sogar die kleinsten Oeffnungen durch Watte verschlossen; außerdem wurde das Ende des Ausführungsröhrchens der Zentrifuge knieförmig nach oben verbogen, damit die ausfließende Milch den ganzen Querschnitt des Röhrchens ausfüllte. Ohne diese Vorrichtung hinterläßt die Milch beim Ausfließen aus dem Röhrchen gewöhnlich eine ansehnliche Lichtung, durch welche man einen Eintritt von Luft von außen ins Innere der Zentrifuge voraussetzen konnte. Die Milchproben wurden bei diesem Versuche, wie auch zuvor, an den nämlichen Stellen vor und nach der Zentrifugierung entnommen; zum erstenmal, mit bedeckter Zentrifuge, 15 Minuten nach Beginn der Arbeit; nach Entnahme der Probe wurde sofort, ohne die Arbeit einzustellen, die Watte von der Zentrifuge entfernt, und nach weiteren 15 Minuten abermals Proben entnommen; ausgesät wurde, wie auch bei den vorangegangenen Versuchen, gleichzeitig auf dreierlei Nährböden. Das erzielte Resultat war folgendes:

			mit Watte	ohne Watte
Fleischpepton-Agar	vor	der Zentrifugierung	180 800	213 600
"	nach	" "	331 600	309 200
Milchagar	vor	" "	168 000	173 400
"	nach	" "	240 800	269 200
Fleischpepton-Gelatine	vor	" "	128 400	156 400
"	nach	" "	227 200	226 400

Es ist nicht schwer, aus den angegebenen Ziffern zu ersehen, daß die Wattebedeckung der Zentrifuge allein nicht das gewünschte Resultat ergeben hat; bei beiden Versuchen verließ die Milch die Zentrifuge mit gesteigertem Keimgehalt, ohne Watte betrug der Zuwachs 48 Proz. und mit Watte sogar 68 Proz. Demnach geschah die Verunreinigung der Milch nicht in der Zentrifuge. Angesichts dessen wurde der nächste Versuch am 18. März auf folgende Weise angestellt: Die Zentrifuge wurde nicht mit Watte bedeckt, sondern verdeckt wurde nur die Eintrittsstelle der Milch in die Zentrifuge und die Austrittsstelle aus derselben an denjenigen Stellen, wo Portionen zur Untersuchung entnommen wurden. Die ersten Portionen wurden 7 Minuten nach Beginn der Arbeit entnommen, wonach im Gange der Watteschutz am Ausgange entfernt, am Eingange aber zurückgelassen wurde, darauf wurden die zweiten Portionen zur Untersuchung nach 10 Minuten entnommen. Ausgesät wurde, wie immer. Das Resultat des Versuches war, wie folgt:

		Ein- und Ausgang mit Watte bedeckt	Nur Eingang mit Watte bedeckt
Fleischpepton-Agar	vor der Zentrifugierung	678 800	798 000
„	nach „ „	899 200	1 330 800
Milchagar	vor „ „	634 400	544 000
„	nach „ „	972 000	861 200
Fleischpepton-Gelatine	vor „ „	487 600	500 000
„	nach „ „	760 400	670 800

Doch, wie aus den angegebenen Ziffern zu ersehen ist, wurde auch bei einer derartigen Bedeckung dasselbe Resultat, wie im vorangegangenen Versuche gewonnen, d. h. die Milch verließ in beiden Fällen die Zentrifuge mit einem größeren Keimgehalt als vor dem Eintritt in die Zentrifuge. In beiden angeführten Versuchen betrug der Zuwachs 43 und 44 Proz. Jetzt wurde es uns klar, daß der Versuch vom 16. Februar uns irregeführt hat; dank gewissen Zufälligkeiten, hatte derselbe ein verlockendes, aber ausnahmsweises Resultat ergeben. Nichtsdestoweniger beschlossen wir, unsere Schlußfolgerung nochmals zu prüfen, und stellten am 22. Mai einen den vorangegangenen analogen Versuch an, und zwar wurde die Wattebedeckung ebenso, wie die im Versuche vom 16. Februar, gemacht, mit Watte wurde die ganze Zentrifuge eingehüllt, sowie auch der Ein- und Ausgang der Milch aus der Zentrifuge. Die Proben zur Untersuchung wurden 20 Minuten nach Beginn der Arbeit entnommen, wonach, ohne den Arbeitsgang der Apparate einzustellen, die Watte nur an der Austrittsstelle der Milch aus der Zentrifuge entfernt wurde, an sämtlichen übrigen Stellen wurde die Wattebedeckung zurückgelassen. Das Resultat der Versuche war folgendes:

Fleischpepton-Agar	vor der Zentrifugierung	5 624 081	3 912 686
„	nach „ „	7 527 668	6 769 377
Milchagar	vor „ „	4 145 677	3 575 382
„	nach „ „	4 479 192	5 890 294
Fleischpepton-Gelatine	vor „ „	4 389 541	3 443 900
„	nach „ „	6 953 524	3 892 188

Auf diese Weise hat dieser Versuch uns endgültig davon überzeugt, daß eine Verunreinigung aus der Luft hier keine Rolle spielt. Dieser Versuch ergab ebenfalls einen Zuwachs von Keimen in der aus der Zentrifuge ausgetretenen Milch; bei allgemeiner Bedeckung betrug der Zuwachs 30 Proz., bei partieller 50 Proz. Jene Beobachtung, welche wir oben vermerkt haben, hinsichtlich des konstanten Verhältnisses zwischen den Zahlen des Zuwachses von Keimen in der Milch

und den Zahlen der ursprünglichen Keimzahl in der Milch vor dem Zentrifugieren, richtete im Verein mit den gewonnenen Versuchsresultaten unsere Gedanken bereits nach anderer Seite. Es wurde klar, daß der Zuwachs der Bakterienflora der Milch nicht auf Kosten irgend welcher Quellen von außen geschah, sondern daß diesen Zuwachs die Milch selbst mit ihrem vor dem Zentrifugieren vorhanden gewesenen quantitativen Bakteriengehalt erzeugte. Um diese These durch einen exakteren Versuch, als die vorangegangenen waren, zu beweisen, benutzten wir die gewöhnliche Laboratoriumszentrifuge mit Handbetrieb. In solch eine Zentrifuge wurden zwei Gläschen mit 25—30 ccm Milch eingestellt, die Gläschen zuvor sterilisiert, mit Milch gefüllt und mit sterilen Pfropfen fest verkorkt, über die Pfropfen kam noch eine Schicht steriler Watte; auf diese Weise konnte von einem Lufteintritt in die Gläschen keine Rede sein. Vor der Verkorkung der Gläschen wurden aus der in denselben enthaltenen Milch Aussaaten gemacht; darauf wurde nach erfolgter Verkorkung die Zentrifuge in Gang gebracht; die Gläschen wurden 10 Minuten lang zentrifugiert, die Tourenzahl der Zentrifuge war 700—800 in der Minute. Unter anderem befand sich die Milch in den Gläschen in auf 30—35° erwärmtem Zustande, d. h. bei derselben Temperatur, mit welcher die Milch in den Molkereien aus dem Erhitzer in die Reinigungszentrifuge eintritt. Nach Verlauf von 10 Minuten wurde die Zentrifuge angehalten, die Gläschen unter allen Kautelen vor bakterieller Verunreinigung geöffnet und aus der Milch Aussaaten gemacht; die Milch in den Gläschen hatte nach dem Zentrifugieren ihr Aussehen gar nicht geändert. Die Aussaaten wurden gleichzeitig auf Fleischpeptongelatine und -agar gemacht. Das Resultat war folgendes:

	Agar-Agar	Gelatine
vor der Zentrifugierung	1 063 663	905 160
nach „ „	1 824 326	1 584 063

Demnach hat der Versuch mit der Handzentrifuge, ein einfacher und exakter Versuch, welcher keine Klausel zurückläßt, ebenfalls nach der Zentrifugierung eine Vermehrung der Keimzahl in der Milch ergeben, und zwar um 73 Proz. Nun fragt es sich, auf welche Weise wird denn dieser Zuwachs geschaffen, wenn keine seitwärtige Verunreinigung stattfindet? Wir haben bereits früher die Ansicht Dunbars und Kisters, welche diese eigentümliche Erscheinung zu erklären sucht, angeführt, doch uns dünkt es, daß dieselbe auf eine etwas andere Weise erklärt werden muß, und zwar daß nicht die Bakterienkonglomerate, von denen die Autoren sprechen, gelöst werden, sondern die in Teilung begriffenen und in Kürze endgültig zu zerfallen bereiten Bakterienzellen. Die Zentrifugekraft beschleunigt, sozusagen, etwas gewaltmäßig den Teilungsprozeß, das ist der Grund, weswegen, wenn vor der Zentrifugierung die Milch, angenommen, 10 Keime enthielt, nach derselben ein Teil der Keime, welche sich zum endgültigen Ausgang in naher Teilung befanden, unter dem Einfluß der mechanischen Einwirkung der Zentrifugalkraft rapid sich auflöst und bereits nicht 10, sondern beispielsweise 15 selbständige Keime ergibt, welcher Zuwachs von der bakteriologischen Analyse jedesmal auch konstatiert wird. Zur Erzielung dieses Effektes ist übrigens nicht unbedingt die Einwirkung der Zentrifugalkraft notwendig, es genügt ein einfaches Schütteln, um annähernd dasselbe Resultat zu erreichen. Nach dieser Richtung haben wir folgenden

Versuch ausgeführt: Wir benutzten den sogenannten automatisch wirkenden Schüttelapparat mit elektrischem Betriebe. In diesen Apparat stellten wir ein zuvor sterilisiertes und danach bis zur Hälfte mit Milch gefülltes Gläschen ein; 150 ccm Milch wurden hineingebracht, bis zu 35° C erwärmt, nach ausgeführten Aussaaten wurde das Gläschen mit einem sterilen Pfropfen verkorkt und außerdem mit Watte bedeckt; das Gläschen wurde 10 Minuten lang geschüttelt, der Apparat gab 200 Schüttelbewegungen in der Minute. Nach Verlauf von 10 Minuten wurde der Apparat angehalten, das Gläschen geöffnet und aus der Milch Aussaaten gemacht. Es muß hinzugefügt werden, daß die Milch bereits kein homogenes Aussehen hatte, wie vor dem Versuch; das Fett hatte sich stellenweise zu großen Tropfen vereinigt, und an den Wänden saßen kleine Tropfen Kaseïngerinnsel. Das Resultat der Analyse war folgendes:

	Agar-Agar	Gelatine
vor der Zentrifugierung	2 466 669	1 425 630
nach „ „	2 665 188	2 881 840

Somit steigt auch beim Schütteln die Zahl der Keime in der Milch; wie der betreffende Versuch lehrt, betrug der Zuwachs 42 Proz. Es muß hinzugefügt werden, daß nach den experimentellen Ermittelungen Dunbars und Kisters sogar beim Filtrieren durch Milchfilter in der filtrierten Milch die Anzahl der Keime sich größer erweist, als vor dem Filtrieren, wobei dieser Zuwachs so ansehnlich ist, daß er hinter dem bei der Zentrifugierung nicht zurücksteht. Nach den Angaben der Autoren kann dieser Zuwachs keineswegs auf Rechnung einer Verunreinigung vom Filter selbst oder auf Rechnung einer Fortpflanzung der Bakterien während der Filtrierung selbst gestellt werden. Somit weist das von den Autoren gebrachte Faktum darauf hin, daß sogar eine so winzige mechanische Einwirkung, wie es der Filtrationsprozeß ist, bereits einen sehr merklichen Einfluß auf den Teilungsvorgang der Pflanzenzellen in einzelnen Individuen ausübt, natürlich, falls man nicht anderer Meinung über diesen Gegenstand ist als der, welche von diesen Autoren in ihrer Arbeit ausgesprochen wird und über welche wir oben gesprochen haben.

Zum Schluß wollen wir noch zwei analoge Versuche anführen, welche aber bereits mit einem kleinen Handseparator, und zwar mit Alfa-Kolibri (Alpha cs, Modell 1904), durchgeführt worden sind. Wir haben für denselben die gleiche Vorrichtung eingerichtet, wie sie auch in großen Separatoren zur Ausscheidung des Schmutzes aus der Milch gemacht wird, d. h. bei dieser Vorrichtung wird die Milch beim Austritte nicht in Rahm und Magermilch ausgeschieden, sondern verläßt den Apparat wieder durchgemengt als Vollmilch. Den ersten Versuch mit dieser Zentrifuge am 2. Mai haben wir übrigens ganz eigenartig durchgeführt; wir haben nur die Trommel derselben benutzt, und zwar wurde das Innere der Trommel sorgfältig ausgewaschen und keimfrei gemacht, danach in dieselbe bis zu $^{3}/_{4}$ ihres Inhaltes Milch hineingebracht, die obere Oeffnung der Trommel wurde durch einen sterilisierten Gummistopfen geschlossen und die seitlichen Austrittsöffnungen mit Schellack übergossen; in solch einem Zustande wurde die Trommel in Gang gesetzt mit einer Schnelligkeit von 5600 Umdrehungen in der Minute. Eine Analyse der Milch wurde vor und nach dem Versuch ausgeführt. Es muß hinzugefügt werden, daß nach der Zentrifugierung, obgleich die Milch auch früher bis zu 35° erhitzt worden war, auf der

Achse der Zentrifugentrommel sich eine merkliche Buttermenge abgesetzt hatte, so daß in der Trommel nach dem Versuche sich eher Magermilch befand als Vollmilch. Das Resultat des Versuches war folgendes:

	Fleischpepton-Agar	Fleischpepton-Gelatine
vor der Zentrifugierung	899 398	2 140 800
nach „ „	1 117 337	2 254 400

Wie aus den Daten dieses Versuches hervorgeht, fand auch hier ein Zuwachs von Keimen nach der Zentrifugierung statt, bei totaler Abwesenheit seitwärtiger Verunreinigungsquellen, doch war dieser Zuwachs bloß unbedeutend, im ganzen um 10 Proz. Das Resultat ist wesentlich analog denen sämtlicher vorangegangener Versuche, die Differenz in der Prozentnorm des Zuwachses aber muß offenbar auf Rechnung der Ausscheidung von Butter in der Trommel gestellt werden, welche einen beträchtlichen Teil der Keime mit sich gerissen und dadurch die Anzahl der Keime in der nach Schluß des Versuches untersuchten entfetteten Milch vermindert hat. Den zweiten und letzten Versuch haben wir bereits mit einer vollständig zusammengestellten Alfa-Kolibrizentrifuge, welche dabei mit einer Vorrichtung speziell zur Ausscheidung von Schmutz versehen war, ausgeführt. Der Versuch wurde am 25. Mai 1904 durchgeführt. Vor allem wurde durch die Zentrifuge sterile Milch gelassen, zuvörderst war der Apparat sorgfältig ausgewaschen und durch Feuer keimfrei gemacht worden; 4 l Milch wurden genommen und zuvor im Autoklaven sterilisiert; als diese Milch in das Aufnahmegefäß der Zentrifuge hineingekommen war, wurden aus derselben Aussaaten auf Fleischpeptonagar und -gelatine gemacht, und sodann die Zentrifuge in Gang gebracht. Die ganze genommene Milchmenge passierte die Zentrifuge in 2 Minuten und wurde im Sammelgefäß gesammelt; nach Durchrührung selbiger in diesem Gefäß wurden neuerdings Aussaaten gemacht. Das Resultat des Versuches war folgendes. Die Ziffern zeigen, wie immer, die Keimzahl in 1 ccm an:

	Fleischpepton-Agar	Fleischpepton-Gelatine
vor der Zentrifugierung	14	48
nach der Zentrifugierung	14	46

Somit war auch bei der neuen Anordnung des Versuches das Resultat ein und dasselbe, bei der Zentrifugierung gibt es keine Verunreinigungsquellen für die Milch, und wenn in nicht steriler Milch nach dem Zentrifugieren eine Vermehrung der Keimzahl konstatiert wird, so geschieht diese Erscheinung auf Kosten der vegetativen Formen der Bakterienflora der Milch selbst.

Sogleich nach der Passage steriler Milch wurde durch die Zentrifuge dieselbe Milch, aber nicht sterilisierte, in einer Menge von 10 l durchgelassen; dieses ganze Quantum passierte die Zentrifuge in 6 Minuten und wurde im Aufnahmeeimer gesammelt. Aussaaten wurden, wie immer, vor und nach der Zentrifugierung unternommen. Wie aus den nachstehenden Ziffern ersichtlich ist, wurde dasselbe Resultat, wie in sämtlichen vorangegangenen analogen Versuchen erzielt. Nach der Zentrifugierung stieg die Keimzahl um 71 Proz.

	Agar-Agar	Gelatine
vor der Zentrifugierung	49 200	20 000
nach der Zentrifugierung	88 800	149 600

Nach Abschluß dieses Versuches wurde sofort die eben durch die Zentrifuge durchgeführte Milch abermals durch den Apparat geleitet und aus der gesammelten Milch wiederum Aussaaten gemacht; nachstehende Ziffern wurden erhalten: Auf Agar 107600 in 1 ccm und auf Gelatine 196000, oder der Zuwachs betrug bei nochmaliger Zentrifugierung 27 Proz., d. h. dasjenige Resultat, welches a priori zu erwarten war, wenn man von dem Gedanken ausgeht, daß bei der erstmaligen Zentrifugierung offenbar ein bedeutend größerer Teil der teilungsreifen vegetativen Zellen bei diesem Prozesse geteilt werden wird und bloß ein geringerer Teil aus irgend einem Grunde unzerteilt bleiben und dieser Teilung erst bei nochmaliger Einwirkung der Zentrifuge anheimfallen wird.

Das ist eigentlich das ganze Versuchsmaterial, welches wir bezüglich dieser Frage in Händen haben. Aus diesen Daten erhellt es, daß die zweifellose Vermehrung der Keimzahl in der Milch unter dem Einfluß der Zentrifugierung und sogar einfach unter dem Einfluß mechanischer Schüttelbewegungen nicht durch Verunreinigung der Milch mit auswärtigen Keimen erzeugt wird, sondern daß diese Vermehrung von der Bakterienflora der Milch selbst ausgeht. Wie entsteht nun diese Vermehrung? Wir haben bereits die Ansicht Dunbars und Kisters über diese Erscheinung angeführt, sie aber erklären auf etwas andere Weise, doch können unsere Versuche eigentlich in gleichem Maße beide hier ausgesprochenen Ansichten bestätigen. Man muß nur des weiteren die einer experimentellen Deutung mehr zugängliche Ansicht Dunbars und Kisters, daß in der Milch in der Tat aus mehreren Bakterienkeimen zusammengesetzte Knäuel vorhanden sind, nachprüfen; wenn dem so ist, so wird es dann sogar leichter fallen, ihre Erklärung über die Vermehrung der Keimzahl in der Milch bei der Filtration und Zentrifugierung zu akzeptieren, als unsere Erklärung. Einberufen zum aktiven Militärdienst in der Feldarmee im entbrannten russisch-japanischen Kriege, konnte ich leider meine Untersuchungen nach dieser Richtung nicht fortsetzen.

Zum Abschluß unserer Abhandlung muß die bereits rein praktische Frage aufgeworfen werden, wenn in der Milch nach der Zentrifugierung die Menge der einzelnen bakteriellen Individuen so stark anwächst, so beeinflußt nicht diese Erscheinung die Haltbarkeit der Milch, oder ist dieselbe ganz ohne Einfluß? Falls die Erklärung Dunbars und Kisters richtig ist, dann kann natürlich die Zentrifugierung gar keinen Einfluß ausüben, falls unsere Erklärung richtig ist, so erfordert die Frage offenbar bereits eine experimentelle Lösung. In der Praxis werden bisweilen Stimmen laut, daß die Produkte aus separierter Milch in ihrer Haltbarkeit etwas beeinträchtigt werden, andererseits haben die Versuche der obengenannten Forscher, Kister und Liefmann, erwiesen, daß in der Gerinnungszeit z. B. keine Differenz zwischen roher und zentrifugierter Milch besteht.

Bemerkungen zu dem Artikel von Direktor A. Peter, „Technisch-bakteriologische Versuche in der Emmentalerkäserei“ [1]).

Von Dr. **Ed. von Freudenreich.**

Anfangs dieses Jahres veröffentliche Direktor Peter im landw. Jahrbuch der Schweiz [2]) eine Arbeit, Technisch-bakteriologische Versuche in der Emmentalerkäserei, in welcher er gleichzeitig über einige von mir angeregte und mit mir gemeinschaftlich ausgeführte Versuche mit Reinkulturen von Milchsäurefermenten berichtete. Da nun Direktor Peter diese Versuche in einer Weise interpretierte, die ich durchaus nicht teilen konnte und die nach meiner Ansicht geeignet war, irrige Ansichten über die Wirkungsweise der Reinkulturen in der Käserei zu verbreiten, und seine Arbeit nunmehr auch den Lesern dieser Zeitschrift, zwar in abgekürzter, aber doch in einer Weise vorführt, die bei jedem, der sie liest, die Ueberzeugung wachrufen muß, daß die Reinkulturen in der Käserei alles Mögliche verschulden können, so sehe ich mich zu meinem Bedauern veranlaßt, einige Bemerkungen dazu zu machen.

Herr Direktor Peter führt auf p. 323 eine Tabelle an, welche zeigen soll, daß Kulturkäse viel niedrigere Säuregrade aufweisen als Naturlabkäse; auch müßte nach dem Ausfall der Käse angenommen werden, daß die Reinkulturen in den drei angeführten Fällen die Käse auch verdorben hätten. So heißt es, daß der Kulturkäse vom 17. Juli unter der Presse blähte; jeder weiß aber, daß an einer derartigen Erscheinung die sog. Blähungserreger schuld sind; da solche aber in den abgegebenen Kulturen nicht enthalten waren, können letztere diese Erscheinung nicht veranlaßt haben. Die Milch der Kulturkäse muß einfach an diesem Tage mit Coli- oder Aërogenes-Bakterien infiziert gewesen sein. Bei dem Kontrollkäse war es nicht der Fall, was auch leicht erklärlich ist, weil entgegen meinem bestimmt geäußerten Wunsche, bei diesen Versuchen nicht für beide Käse die gleiche, sondern verschiedene Milch gebraucht wurde. Ferner heißt es in der Tabelle bezüglich des Ausfallens der beiden anderen Käse, daß sie „schwammig“ waren und „Glanzloch“ hatten. Da der „Ausfall“ der Käse vom Käsehändler beim Ankauf der Käse bestimmt wird, also 5—6 Monate nach ihrer Herstellung, so müßte man glauben, daß die betreffenden Kulturkäse zu dieser Zeit „schwammig“ waren. Dieses war nun aber in keiner Weise der Fall und es liegt hier eine Verwechselung vor. Der Ausdruck „schwammig“ soll sich nur beziehen auf die Beschaffenheit des Bruches bei der Herstellung der Käse. In der Tat soll der Bruch an diesen Tagen nicht die richtige Konsistenz gehabt haben. Daß dieses wirklich der Fall war, will ich nicht in Abrede stellen, aber die Sache so darstellen, als ob die Kultur als solche daran schuld gewesen sei, scheint mir sehr gewagt, da der gleiche Fehler bei Verwendung ungeeigneter Milch oder bei schlechter Fabrikation sich zeigen kann. Daß dieser Fehler nicht durch die bloße Anwendung einer Kultur von Milchsäurefermenten bewirkt wird, ergibt sich übrigens aus dem Umstande, daß bei den Versuchen im Sommer 1903 derselbe sich nicht zeigte.

1) Diese Zeitschrift. Bd. XIV. 1905. p. 321.
2) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1905. p. 171.

Was nun den Säuregrad der betreffenden Käse anlangt, so sind die angeführten Zahlen richtig, und wenn man diese Tabelle allein sieht, so möchte man daraus schließen, wie Direktor Peter es tut, daß in der Tat das Naturlab bessere Garantieen für die Säurebildung im Käse gibt als Reinkulturen. Aber es wäre hinzuzufügen gewesen, daß auch sehr viele der im gleichen Sommer hergestellten Naturlabkäse und die meisten der Winterkäse ebenfalls niedrige Säuregrade aufwiesen; der beste Beweis, daß die Kulturen als solche nichts damit zu tun haben. Uebrigens ergibt sich aus der Arbeit des Herrn Direktor Peter selber, daß hier andere Faktoren eine Rolle spielen können, denn er sagt weiter unten, daß man durch technische Kunstgriffe die Säurezunahme befördern kann. Möglich ist nun, daß gerade bei Reinkulturen, mit welchen Kunstlab (Labpulver) verwendet wird, die technische Seite eine große Bedeutung hat, und ich habe hier nicht weiter zu untersuchen, ob nicht durch Anwendung solcher technischen Kunstgriffe das Resultat in günstigem Sinne hätte beeinflußt werden können, sicher ist es aber, daß auch mit Reinkulturen und Kunstlab eine richtige Beschaffenheit des Bruches erzielt werden kann, denn dieses war tatsächlich der Fall in den Versuchen im Jahre 1903.

Was speziell noch die fehlerhafte Lochung anlangt, die scheinbar auf die Verwendung der Reinkulturen zurückgeführt wird, so ist der Bericht des Herrn Direktor Peter dahin zu ergänzen, daß auch eine ganze Anzahl der mit Naturlab hergestellten Käse den gleichen Fehler zeigten, wie er sich selber bei einer späteren Untersuchung mehrerer Käse in meiner Gegenwart überzeugen konnte.

Daß übrigens der Vergleich nicht zu Ungunsten der Kulturkäse ausfällt, ergibt sich daraus, daß wenn man von den Perioden absieht, die gewissermaßen zu Vorversuchen dienten, das Verhältnis der vom Käsehändler als Primaware angenommenen Käse bei Naturlab- und Reinkulturkäsen ungefähr gleich war. Nie habe ich aber gesagt, daß man mit Reinkulturen bessere Resultate erzielen würde als mit gutem Naturlab. Der Vorteil derselben liegt nach meiner Ansicht vielmehr nur darin, daß man von den Zufälligkeiten bei der Benutzung des Naturlabes unabhängig wird.

Gegenüber der heutigen Auffassung des Herrn Direktors Peter möchte ich übrigens noch an seine eigenen Worte in seinem vorjährigen Berichte erinnern, in welchem er sich dahin äußerte, daß bei richtiger Anwendung der Kulturen die Reinkulturkäse im ganzen ebensogut ausgefallen waren wie die Kontrollkäse.

Daß bezüglich der Verwendung der Kulturen noch Erfahrungen gesammelt werden müssen, gebe ich gerne zu, denn Alter, Menge, Gärfähigkeit u. s. w. spielen jedenfalls eine Rolle. Auch ist die Frage der Lochbildung durch dieselben in ihrer jetzigen Gestalt noch nicht gelöst und sind daher noch weitere Studien in dieser Hinsicht nötig. Glücklicherweise wird unsere Anstalt von jetzt an über ein hinreichendes Milchquantum disponieren, um die Herstellung größerer Versuchskäse zu ermöglichen, was bis jetzt nicht der Fall war, so daß sie im stande sein wird, die Lösung dieser Fragen selbst an die Hand zu nehmen.

Zur Kenntnis der Sklerotienkrankheit der Alpen-Erle.

Von Prof. Dr. **Ed. Fischer,** Bern.

Mit 1 Tafel.

Die in den Früchten von Alnus auftretende Sclerotinia ist schon Gegenstand mehrfacher Untersuchung gewesen. Maul (1), der sie zum ersten Male unter dem Namen Scl. Alni eingehender beschrieb, gab eine detaillierte Darstellung ihres Aufbaues und der durch sie verursachten Veränderungen der Erlenfrüchte. Er sah auch aus denselben, als er sie auf feuchtem Sande auslegte, wirtelartig verzweigte Konidienträger hervorgehen, an denen in succedaner Folge sehr kleine Konidien abgeschnürt wurden. Die Ascusfrüchte wurden dann im Jahre 1897 von Rostrup (2) beschrieben, 1899 wurden sie von Hennings (3) aus Deutschland erwähnt, wo sie Dr. Ploettner in der Umgebung von Rathenow gefunden hatte, und endlich hat Bubák (4) neuerdings wieder eine Beschreibung derselben gegeben.

Die Nährpflanzen, auf denen der Pilz bisher gefunden wurde, sind Alnus incana und A. glutinosa. Auf A. viridis ist er meines Wissens zum ersten Male von Volkart gefunden worden bei Aegeri im Kt. Zug (5). Veranlassung zu der folgenden Mitteilung gaben Sklerotien, welche ich, noch in den Zäpfchen sitzend, am 12. September letzten Jahres im Diemtigental (Berner Oberland) in einer Höhe von ca. 1800 m auf Alnus viridis sammelte. Die Untersuchung derselben ergab einige, wie mir scheint, bemerkenswerte Unterschiede gegenüber den bisherigen Beobachtungen.

Maul gibt eine ziemlich einläßliche Beschreibung vom Aufbau der normalen Frucht von Alnus glutinosa. A. viridis stimmt in den Hauptzügen damit überein: Es handelt sich bekanntlich um abgeplattete Schließfrüchtchen, die bei unserer Species einen breiten flügelartigen Saum besitzen; am Scheitel tragen sie die Ueberreste zweier Griffel. In der Fruchtwand unterscheidet Maul 3 Schichten, welche auch bei A. viridis nachzuweisen sind: ein Exokarp aus nicht sehr dickwandigen, stark zusammengedrückten, gebräunten Zellen, ein sklerenchymatisches Mesokarp aus mehreren Lagen von Zellen bestehend, welche in der Längsrichtung der Frucht stark gestreckt sind, und endlich ein Endokarp, das ein schmales gelbes Band darstellt, an welchem man keine deutliche Struktur mehr erkennt. Die Flügel der Frucht werden durch das hier stark vorgezogene und innen dünnwandig lockerzellige Exokarp gebildet. — Das Endokarp ist dann nach Mauls weiterer Darstellung durch eine Reihe quadratischer, inhaltsleerer Zellen mit der Samenschale verbunden und letztere selbst „besteht aus zwei bis drei Schichten dichtgefüllter Zellen und umschließt die beiden frei in ihr liegenden gleichhälftigen Kotyledonen“. Ich habe nun bei der Untersuchung normaler Früchte, die ich zugleich mit den sklerotisierten gesammelt, auch in Bezug auf den Samen genau die gleichen Verhältnisse gefunden wie Maul, nur bin ich dabei zu einer anderen Auffassung gelangt: Ein Schnitt durch die Mikropyle des Samens (Fig. 1) zeigt nämlich aufs deutlichste, daß die Schicht aus inhaltsleeren quadratischen Zellen (*SaS*) zum Integument gehört, also direkt einen Bestandteil der Testa darstellt, dann folgt eine Schicht, deren Struktur nicht mehr recht deutlich ist (ebenfalls zum Integument gehörig) und endlich finden wir die 2 bis

3 Lagen dichtgefüllter Zellen (*Ng*), welche den Embryo (in unserem Schnitte ist derselbe herausgefallen) umgeben und von Maul zur Testa gerechnet werden. Allein schon ihr reicher Oelgehalt und ihre mit den Cotyledonen durchaus übereinstimmende Beschaffenheit weisen darauf hin, daß sie als Nährgewebe angesehen werden müssen, und auch aus Fig. 1 geht hervor, daß sie nicht dem Integumente angehören; Untersuchung jüngerer Stadien muß lehren, ob es sich um Endosperm oder Perisperm handelt. Es wären somit sowohl die von Maul als die von mir untersuchten Samen nährgewebehaltig; dieser Befund steht aber im Widerspruche mit den Angaben der übrigen Autoren, welche diesen Gegenstand erwähnen, so z. B. Schumann[1]): „Die Keimblätter sind verhältnismäßig groß, elliptisch und plankonvex. Nährgewebe fehlt vollkommen, es ist für die Bildung des Keimlings aufgebraucht worden." Ich kann mir diesen Widerspruch nicht gut anders erklären als durch die Annahme, daß die von Maul und von mir untersuchten Samen noch nicht ihre volle Reife erlangt hatten.

Bekanntlich enthält die Erlenfrucht ursprünglich zwei Samenanlagen, die am oberen Ende eines vom Grunde aufsteigenden Samenträgers anatrop befestigt und mit ihrer Mikropyle gegen den Fruchtknotenscheitel gerichtet sind. Von denselben entwickelt sich aber in der Regel nur die eine und man findet dann neben diesem entwickelten Samen oft die Reste der geschrumpften zweiten Samenanlage, die ebenso wie der Samenträger ganz zur Seite gedrückt sind. In seltenen Fällen fand ich bei Alnus viridis beide Samen normal entwickelt und embryoführend. Sehr häufig trifft man aber auch taube Früchte, in denen beide Samenanlagen verkümmert sind; diese Früchte haben ungefähr normale Größe und die Samenanlagen sind auf dem oberen Ende des stark entwickelten Samenträgers mit nach oben gerichteter Spitze inseriert.

Bei den sklerotisierten Früchten erfüllt nun das Hyphengeflecht des Pilzes das ganze Innere der Frucht lückenlos. Es hat dieses Geflecht meist weißliche Farbe; die Hyphen zeigen farblose Membran und lassen teils ihren Hyphencharakter noch mehr oder weniger deutlich erkennen, teils bilden sie ein eigentliches Pseudoparenchym. In diesem Pilzgewebe eingebettet erkennt man noch ganz deutlich die Ueberreste der Samenanlagen. Wie Fig. 3 zeigt, welche einen parallel der Fruchtfläche geführten Schnitt darstellt, sind deren fast immer zwei vorhanden (*Sa*). Man erkennt auch deutlich noch ihre Insertion auf dem Scheitel des Samenträgers (*Tr*), von dem wenigstens das Gefäßbündel erhalten geblieben ist. Es ist von ihnen meist nur eine gelbliche Konturlinie erhalten, die dem Integumente entspricht, nur andeutungsweise mögen gelegentlich auch die inneren Teile noch erkennbar sein. Ihre Größenverhältnisse zeigen, daß sie auf einer frühen Stufe ihrer Entwickelung in ihrem Wachstum sistiert worden sind, in einem Stadium, in welchem sie beide noch ungefähr gleich groß waren. (Wenn in Fig. 3 die eine etwas kleiner erscheint als die andere, so mag dies davon herrühren, daß der Schnitt die erstere nicht ganz genau median getroffen hat.) Sie entsprechen in ihrer Größe und Disposition ganz auffallend den in ihrer Entwickelung sistierten Samen, wie man sie in den tauben Früchten vorfindet. Im Gegensatz hierzu beobachtete Maul in seinen Sklerotien fast immer nur den Rest einer einzigen Samenanlage.

1) Praktikum f. morphologische u. systematische Botanik. 1904. p. 325.

Einen ferneren Unterschied gegenüber Mauls Beobachtungen ergab meine Untersuchung über das Verhalten der Sklerotiumoberfläche. Maul findet nämlich sein Sklerotium nicht von einer dunkeln Rindenschicht umgeben: „Es steht dies im Gegensatz zu anderen bekannten Dauermycelien .... Hier muß sich das Sklerotium zu seinem Schutze selbst mit einer aus engverklebten Hyphen gebildeten, meist anders gefärbten Rinde umgeben, während bei den Alnus-Früchten die harte Fruchtschale eine natürliche Hülle bildet". Dementsprechend erschienen in den von Maul beobachteten Fällen die infizierten Nüßchen wenig verändert, etwas deformiert und verfärbt. In dieser Beziehung verhielten sich nun unsere sklerotisierten Alnus-Früchte anders: Schon äußerlich zeigten sie sich geschwärzt, aber nicht alle gleich: es ließen sich vielmehr verschiedene Grade der Sklerotisierung unterscheiden, die wohl auch verschiedenen Entwickelungsstadien entsprechen. Die einen Früchte zeigten eine dunklere Farbe nur in ihrem oberen Teile: es erscheint diese Partie grauschwarz und etwas, aber nicht stark, wulstig vorgewölbt, nach unten wird sie durch eine schwarze Linie gegen die normal aussehenden Basalteile der Frucht abgegrenzt (Fig. 2a). Bei anderen Früchten dagegen erscheinen die verfärbten Partieen dunkler, fast schwarz, sind stärker vorgewölbt und reichen meist auch weiter nach unten (Fig. 2b); in einigen Fällen war die Frucht bis zu ihrer Basis schwarz.

Dementsprechend ergab auch die Untersuchung von Quer- und Längsschnitten eine ungleich fortgeschrittene Entwickelung der Sklerotien. Am klarsten sind diese Verhältnisse ersichtlich bei Vergleichung von Längsschnitten, die senkrecht zur Fläche der Frucht geführt worden sind (s. Fig. 4 und 5).

Betrachten wir zunächst eines derjenigen Sklerotien, bei denen die dunkelgefärbte Oberfläche sich nur auf den oberen Teil erstreckt (Fig. 4). Hier entspricht das Verhalten des unteren Teils allerdings genau der von Maul gegebenen Darstellung: das ganze Fruchtinnere ist mit Ausnahme des Samenträgers (*Tr*) vom Sklerotiumgeflecht ausgefüllt und das letztere wird an seiner Oberfläche durch die Sklerenchymschicht (*Scl*) der Fruchtwand abgegrenzt, ohne daß hier eine besondere Sklerotiumrinde zur Entwickelung kommt. Anders aber im oberen Teil, an denjenigen Stellen, welche, von außen betrachtet, etwas wulstig vorgewölbt und dunkel gefärbt erscheinen: hier hat sich das Exokarp (*Ex*) als dünne Haut vom sklerenchymatischen Mesokarp abgelöst und abgehoben, und das Sklerotiumgeflecht setzt sich durch das letztere nach außen fort und bildet an der Oberfläche desselben unter dem abgehobenen Exokarp noch mehrere Lagen von Pseudoparenchym (s. Fig. 6). Die äußersten Zellenlagen des letzteren (*Rd*) haben dabei hellbräunlich-violett gefärbte Membranen; es läßt sich also mit anderen Worten hier der Anfang einer Rindenbildung erkennen. Von ganz besonderem Interesse ist aber der fernere Umstand, daß diese angehende Rindenschicht in diesem Stadium der Sklerotienentwicklung von einem Konidienlager (*Co*) bedeckt wird. Dasselbe besteht aus einem dichten Rasen von sehr feinen, farblosen Hyphen, welche an ihrer Spitze, kettenartig, sehr kleine farblose Konidien abschnüren. Die Gestalt derselben ist kurz ellipsoidisch oder etwas unregelmäßig, ihr Durchmesser beläuft sich auf 1,5—2 μ. Nachdem sie sich abgelöst haben, bleiben sie in großer Menge unter dem blasig abgehobenen Exokarp angehäuft, bis sie dann, wahrscheinlich durch Zerreißen des letzteren, ins Freie gelangen. Ob diese

Konidien keimfähig sind, bleibt noch zu untersuchen. In ihrer Kleinheit erinnern sie an die von Woronin (6, 7) bei verschiedenen Sklerotinien beschriebenen keimungsunfähigen Gebilde, die ebenfalls durch succedane Abschnürung entstehen. Es können übrigens auch im unteren, nicht geschwärzten Teile der Sklerotien solche Konidien entstehen: man sieht nämlich dort stellenweise die Sklerenchymschicht des Mesokarps zerrissen, dadurch wird das Sklerotiumgeflecht ein wenig freigelegt, und an solchen Stellen fand ich ebenfalls kleine Anhäufungen von Konidien, für die ich freilich den Abschnürungsmodus nicht näher beobachten konnte.

Untersucht man nun ältere Sklerotien (Fig. 5), so sind dieselben von den soeben besprochenen durch größeren Durchmesser verschieden. Auch hier ist die Stelle, wo sich das Konidienlager (*Co*) befunden hat, noch leicht erkennbar am abgehobenen Exokarpium (*Ex*); zugleich aber bemerkt man, daß die Ausbildung dieses Lagers nicht weiter nach unten fortgeschritten ist; vielmehr hat die Konidienbildung größtenteils aufgehört, vom Lager sind höchstens noch Reste vorhanden und die unter demselben schon im vorangehenden Stadium angelegte Rinde hat sich jetzt definitiv ausgebildet zu einer dunkelbraunen Pseudoparenchymschicht, deren Zellen mehr oder weniger palissadenartig senkrecht gegen die Oberfläche gerichtet sind und ziemlich dunkel braunviolett gefärbte Membranen aufweisen. Von dem ursprünglichen Konidienlager aus hat sich nun aber die Ausbildung einer Rinde auch auf die unteren Teile des Sklerotiums fortgesetzt und man findet eine solche jetzt auch an denjenigen Oberflächenteilen, an welchen vorher keine Konidienbildung stattgefunden hatte. Sie reicht dabei, je nach dem Alter des Sklerotiums, bald weiter bald weniger weit gegen die Basis der Frucht hinab. Diese Rindenschicht liegt überall außerhalb der Sklerenchymschicht und unter dem Exokarp; das Sklerotiumgeflecht muß also zur Bildung derselben durch die Sklerenchymschicht hindurchgewachsen sein. Letztere scheint dabei nach und nach desorganisiert zu werden, denn in älteren Sklerotien ist sie sehr dünn geworden. Mit Hilfe der Rotfärbung durch die Phloroglucinsalzsäurereaktion läßt sie sich aber noch deutlich verfolgen, und da erkennt man auf Längsschnitten durch das Sklerotium, daß sie mitunter stellenweise ganz unterbrochen ist. Schließlich scheint sie sogar auf größere Strecken ganz zu verschwinden.

Neben den beschriebenen sklerotisierten Früchten traf ich hier und da auch solche, bei denen die Verpilzung weniger vollständig erfolgt ist, indem trotz der Entwickelung von Pilzgeflecht und von Konidienlagern dennoch einer der beiden Samen einen normalen Embryo führt. Es hatte sich aber in einem näher untersuchten derartigen Falle auch zwischen Testa und Nährgewebe eine Schicht von Hyphengeflecht ausgebildet.

Aus unseren Beobachtungen geht also hervor, daß in einem bestimmten Entwickelungsstadium des Sklerotiums an dessen Oberfläche Konidienlager gebildet werden, deren Auftreten uns unwillkürlich die Verhältnisse von Claviceps purpurea ins Gedächtnis rufen. Freilich muß, wie schon oben bemerkt wurde, dahingestellt bleiben, ob die so entstandenen Konidien keimfähig sind und zur Propagation des Pilzes dienen können. Es erscheint letzteres aus folgenden Gründen unwahrscheinlich: Für die jedenfalls sehr nahe verwandte Sclerotinia Betulae hat Nawaschin (8) nachgewiesen, daß die Infektion Anfangs Mai in der Blüte erfolgt. Nun entstehen aber die Konidien zu einer

Zeit, in welcher kaum mehr infektionsfähige Blüten vorhanden sein dürften, so daß also tatsächlich für diese Konidien, wenigstens auf der Erle, kaum die Möglichkeit einer Weiterentwickelung vorhanden ist.

Es bleibt uns schließlich nur noch übrig zu untersuchen, ob und inwieweit unsere Beobachtungen über die Sklerotienrinde und die Konidienbildung mit den abweichenden Angaben von Maul in Einklang gebracht werden können. Vorausgesetzt, daß die Sclerotinia auf Alnus viridis der gleichen Species angehört wie diejenige auf A. incana und glutinosa — und daran ist vorderhand, solange uns nicht die Apothecien eines anderen belehren, nicht zu zweifeln — erscheint es mir am wahrscheinlichsten, daß es Maul, trotz seiner gegenteiligen Angabe, wohl mit Sklerotien zu tun gehabt hat, die noch unreif aus den Zäpfchen herausgefallen waren, welche daher noch keine Konidienlager und keine Rinde gebildet hatten. Denn daß die Sklerotien auf Alnus glutinosa, wenn sie reif sind, auch eine dunkle Rinde bilden, das geht aus Bubáks Angabe hervor, wonach dieselben schwarzbraun gefärbt sind; auch die Sklerotien auf A. incana, welche Rostrup vor sich hatte „waren entweder schwarz oder schwarz und gelb gescheckt". Es würde dies auch erklären, weshalb es Maul bei seinen Sklerotien nicht zur Apothecienbildung brachte. Dagegen muß man annehmen, daß solche unreife Sklerotien, wenn sie feucht gelegt werden, doch auch im stande seien, Konidien zu bilden, nur entstehen die letzteren dann auf langen, verzweigten Konidienträgern, statt auf kurzen Rasen: Die von Maul beschriebenen Konidienbildungen muß ich nämlich mit den von mir beobachteten für gleichwertig halten, denn sie stimmen mit ihnen sowohl hinsichtlich ihrer Größe wie auch hinsichtlich ihrer Bildungsweise (in Ketten) doch gar zu auffallend überein.

Bern, im April 1905.

Literatur.

1) Maul, R., Ueber Sklerotienbildung in Alnus-Früchten (Sclerotinia Alni mihi). (Hedwigia. 1894. p. 215—228. Tab. XI—XII).
2) Rostrup, O., Die Sklerotienkrankheit der Erlen-Früchte. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. p. 257—260.)
3) Hennings, P., Einige neue und interessante Ascomyceten aus der Umgebung von Rathenow. (Abhandlungen des botan. Vereins der Provinz Brandenburg. Bd. XLI. p. 94 ff.)
4) Bubák, Fr., Die Fruchtbecher von Sclerotinia Alni Maul. (Annales Mycologici. Bd. II. 1904. p. 253—254.)
5) Fortschritte der schweizerischen Floristik. (Berichte d. schweiz. botan. Gesellschaft. Heft 12. 1902. p. 66.)
6) Woronin, M., Die Sklerotienkrankheit der Vaccinienbeeren. (Mémoires de l'Académie impériale des sciences de St. Pétersbourg. Sér. VII. T. XXXVI. No. 6. 1888.)
7) — Die Sklerotienkrankheit der gemeinen Traubenkirsche und der Eberesche. (Ibid. Sér. VIII. Vol. II. No. 1. 1895.)
8) Nawaschin, S. in der Zeitschrift „Das russische Forstwesen" I. Jahrgang 1892. (Der Inhalt dieser Mitteilung ist mir nur aus dem Artikel v. Tubeufs, Die Sklerotienkrankheit der Birkenfrüchte, in Forstlich-naturwissenschaftliche Zeitschr. 1893, Heft 10, bekannt.)

Tafelerklärung.

Fig. 1. Längsschnitt durch den Scheitel einer gesunden Frucht von Alnus viridis mit dem oberen Teil des Samens: *gf* Griffelbasis. *Scl* Mesokarp (Sklerenchymschicht). *SaS* Oberflächenschicht der Samenschale. *Ng* Nährgewebe. *E* Hohlraum, welcher vom (herausgefallenen) Embryo ausgefüllt war. Vergr. 140.

Fig. 2. Sklerotisierte Früchte von Alnus viridis, Außenansicht: *a* jüngere, *b* ältere Sklerotien. Vergr. 2.

Fig. 3. Flächenschnitt eines Sklerotiums (parallel der Fruchtfläche). *Sa* die Ueberreste der Samenanlagen *Tr* Samenträger (bezw. Gefäßbündel desselben). Vergr. 35.

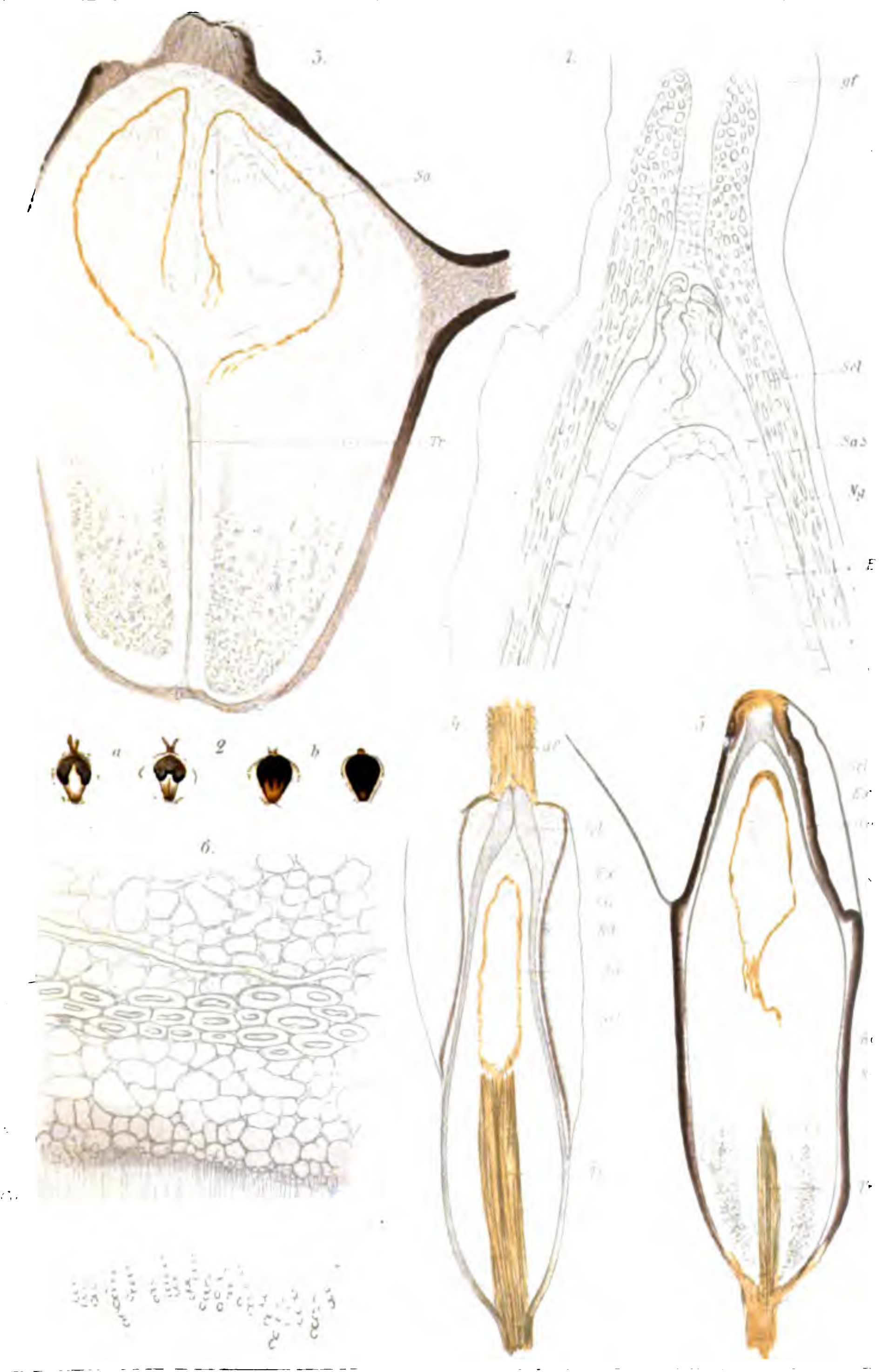


Fig. 4. Längsschnitt eines Sklerotiums, senkrecht zur Fruchtfläche geführt. *gf* Griffelbasis. *Scl* Mesokarp (Sklerenchymschicht). *Ex* über dem Konidienlager abgehobenes Exokarp. *Co* Konidienlager. *Rd* Sklerotiumrinde (hier nur unter dem Konidienlager entwickelt). *Sa* Rest der Samenanlage. *Tr* Samenträger. Vergr. 35.

Fig. 5. Ebensolcher Schnitt wie Fig. 4, aber durch ein älteres Sklerotium. Buchstaben wie in Fig. 4. *Co* bezeichnet diejenige Oberflächenpartie, an welcher sich im früheren Stadium das Konidienlager befand. Vergr. 35.

Fig. 6. Konidienlager und darunterliegendes Sklerotiumgeflecht nebst Mesokarp, im gleichen Entwickelungstadium wie Fig. 4. *Scl* Mesokarp (Sklerenchymschicht). *Rd* junge Sklerotiumrinde. *Co* Konidienlager. Vergr. 620.

Rhizopus oligosporus, ein neuer technischer Pilz Chinas.

[Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des botanischen Instituts der Kaiserl. Universität zu Tokyo.]

Von Prof. Dr. **K. Saito.**

Mit 1 Tafel.

In neuerer Zeit wurde eine Anzahl technischer Pilze Ostasiens seitens der Gärungsmykologen in den Bereich der Untersuchungen gezogen, und es liegt der Gedanke nahe, daß die Zahl solcher praktisch wichtigen Pilzarten infolge der genaueren Forschungen sich bedeutend vermehren wird.

Glücklicherweise gelang es mir, durch die Freundlichkeit des Herrn Prof. J. Takano an der technischen Hochschule zu Tokyo, welchem ich meinen besten Dank schuldig bin, einige Reismehlkuchen zu erhalten, welche die Chinesen in der Stadt Kōbe für den Zweck der Zubereitung eines alkoholischen Getränkes aus Reis verwenden. Es wurde dort gesagt, daß das Stammmaterial dieser Kuchen aus der Provinz Shan-tung (China) herstamme, wo sie auch zu demselben Zwecke gebraucht werden.

Die mir zugestellten Kuchen waren von zweierlei Art, wovon die eine für die Bereitung des besten Handelsartikels und die andere beim Brennen der normalen Ware verwendet wird. Der erste Kuchen ist kuglig, ca. 3 cm im Durchmesser, rein weiß und mit Reismehl zusammengeknetet. Beigemengt finden wir zerschnittene Blattteilchen von Zimmt, welcher sich durch den charakteristischen Geruch kundgibt. Das zweite Material war nur ein kleines Stück eines flachen Kuchens, welcher aus einer niederen Reissorte zusammengeknetet und stellenweise mit Reisstroh und groben Blattstücken von einem Dikotylengewächse versehen ist.

Unter dem Mikroskop läßt sich in beiden Sorten außer den polygonalen Stärkekörnchen auch eine Menge von Gemmen, Sporen etc. erkennen. Es ist also ohne weiteres klar, daß die Verzuckerung der Stärke bei der Fabrikation durch eine oder mehrere Schimmelpilzarten herbeigeführt wird. Der üblichen Isolierungsmethode folgend, fand ich unter den Kleinlebewesen, welche der Kuchen einschließt, drei Arten Fadenpilze, die alle die hauptsächliche Pilzflora des Kuchens bilden. Von denselben wurde die eine Art als Rhizopus chinensis bestimmt; er wurde einmal von mir im Weizenmehlkuchen aus der Stadt Shao-hing in China gefunden und schon den Verzuckerungspilzen zu-

gezählt[1]). Der zweite Fadenpilz stellt sich als eine neue Art der Gattung Rhizopus dar, für die ich wegen der spärlichen Sporenbildung den Namen Rh. oligosporus vorschlage. Die dritte Art ist der von Lindner gefundenen Sachsia suaveolens sehr ähnlich; sie hat keine nennenswerte Verzuckerungskraft.

Rhizopus oligosporus.

I. Morphologisches.

Der Pilz bildet auf festen und auf flüssigen Substraten einen lockeren Rasen, welcher selbst bei üppigem Wachstum noch niedrig bleibt. Gelegentlich tritt bei dem Rasen die Sporangienbildung hervor.

Die Sporangienträger treten zu 1—4 an einem Knoten gemeinschaftlich mit den Rhizoiden zusammen auf oder wachsen einzeln aus beliebigen Stellen der Luft- und Substratmycelien empor. Sie sind kurz, 600 μ bis 1,1 mm lang, gerade oder gebogen, meistens einfach oder selten schwach verzweigt (Fig. 1). Die Dicke des Stiels bleibt sich fast gleich vom Grunde bis zur Spitze hin und beträgt ca. 10—18 μ. Die Wand ist anfangs farblos, später tief gelbbraun, und manchmal ist die Außenfläche rauwarzig durch die ausgeschiedenen kristallinischen Kalkoxalate. Niemals fand ich die kuglige Anschwellung an dem Stiele, welche bei den Sporangienträgern der bekannten technischen Mucorineen, wie Mucor Rouxii[2]), Mucor Cambodja[3]), Rh. chinensis[4]) u. s. w., als eigentümliches Gebilde oft hervortritt.

Die Sporangien sind anfangs farblos, später werden sie allmählich undurchsichtig schwarz. Ihre Gestalt ist meist kuglig, ihre Größe aber sehr variabel, meist 180 μ im Durchmesser, selten bis 100 μ sinkend (Fig. 3). Die Sporangienwand ist rauhwarzig, hart und leicht zerbrechlich, an der Basis mit ziemlich großem Fetzen der Basalkragen. Die vollständig entwickelte Columella mit hoch entwickelter Apophyse ist rund oder selten mit schwacher Abplattung, ca. 120 μ breit und 100 bis 120 μ lang (bei kleinen Sporangien bis 60 μ sinkend), glatt, farblos bis schwach graulich (Fig. 4).

Die Sporen sind kuglig bis oval, 7—10 μ groß oder manchmal miteinander verwachsend, dünn- und glattwandig, in großer Anhäufung bräunlich und einzeln grau bis bräunlich gefärbt (Fig. 6).

Die Gemmen kommen an den Substrat- und Luftmycelien, besonders massenhaft bei den Kulturen auf dem Reis und der Würze, vor. Sie sind meist kuglig oder oval, verhältnismäßig dünnwandig, hell und stark lichtbrechend, wesentlich dicker als die vegetativen Hyphen (Fig. 5). Bei alten Kulturen findet man nicht selten sehr dickwandige Gemmen. Die Größe der Gemmen variiert von 18—60 μ im Durchmesser. Unter günstigen Umständen gehen sie in Keimung über, wobei zarte Schläuche heraustreten; eine hefeähnliche Sprossung wurde dabei nicht beobachtet. Weder auf flüssigen noch auf festen Nährböden kamen die Zygosporen zum Vorschein.

Die Ausläufer sind meist farblos, und ihre Außenfläche ist zuweilen

1) Saito, K., Eine neue Art der „chinesischen Hefe". (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIII. p. 153.)

2) Wehmer, C., Die „chinesische Hefe" und der sogenannte Amylomyces. (Centralbl. für Bakt. Abt. II. Bd. VI. p. 353.)

3) Chrząszcz, T., Die „chinesische Hefe". (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 326.)

4) Saito, K., l. c. p. 154.

rauhwandig durch die ausgeschiedenen kristallinischen Kalkoxalate. In ihrem Verlaufe können sie sich verschiedenartig verzweigen (Fig. 7) und bei der Berührung mit festen Substraten können schwach entwickelte, farblose oder schwach bräunlich gefärbte, selten mit Querwänden versehene Rhizoiden gebildet werden, woraus weiteres Wachstum der Hyphen nur ausnahmsweise stattfindet (Fig. 2).

II. Physiologisches.

Von den festen Nährsubstraten ist der Reis als das günstigste zu nennen, weil auf demselben der Rasen sich schnell und verhältnismäßig kräftig entwickelt und die gedämpften Reiskörner durch die Pilzhyphen dicht umsponnen und durchwachsen werden. Spärlich tritt die Sporangienbildung auf, welche auf Gelatine und Agar niemals vorkommt. In beiden letzteren Nährböden bildet der Pilz nur spärliche, flockige Luftmycelien, und diese Substrate sind weniger günstig für die Entwickelung als der Reis. Sehr reichliche Gemmen kommen aber an den Kulturen vor.

Von den flüssigen Substraten wächst der Pilz in der Würze verhältnismäßig üppig; zuerst entstehen submerse Mycelien, aus welchen die oberflächliche, schneeweiße Myceldecke bald hervorwächst. In der letzteren findet man statt der Sporangien reichliche Gemmen, und schwache Gasentbindung findet bisweilen unter der Decke statt. Der Pilz kann sich auf den verschiedenen Kohlehydraten[1]), wie Dextrose, Lävulose, Maltose, Galaktose, üppig entwickeln, weniger günstig aber sind Saccharose, Inulin[2]), Laktose und Stärkekleister. In diesen Kulturen findet man gewöhnlich nichts von Sporangien, so daß der Rasen stets schneeweiß bleibt; selten treten nur unvollständig entwickelte und sporenlose Sporangien, welche zuweilen bräunliche Farbe annehmen, hervor. Was die Gemmen betrifft, so scheint das dargebotene Kohlenhydrat auf deren Entstehen Einfluß zu üben, weil sie sich bei Stärkekleisterkulturen kaum bilden, während sie bei anderen Kulturen reichlich hervortreten.

In Zimmertemperatur entwickelt sich der Pilz nur langsam, selbst auf dem gut ernährenden Reis. Dagegen wächst er bei 30--35° C stets rasch und üppig, und der gedämpfte Reis wird in einigen Tagen von den Mycelien um- und durchsponnen. Dabei beginnt der Reis sich schnell zu verflüssigen und gelbliche Farbe anzunehmen und läßt sich leicht konstatieren, daß unserem Pilze ein kräftiges Vermögen der Stärkeverzuckerung innewohnt. Die Kultur auf dem Reis roch später etwas geistig.

Eine schwache Gärerscheinung kommt auch bei diesem Pilze vor. Unter der Myceliendecke auf der Würze sammeln sich zuweilen einige Gasblasen, und der Alkohol läßt sich durch die Jodoformprobe nachweisen. Ebenso kann man in den Kulturen auf Traubenzucker die Bildung des Alkohols leicht konstatieren.

III. Affinität.

Wenn wir die oben erwähnten Eigenschaften unseres Pilzes zusammenfassen und nach seiner systematischen Stellung suchen, so wird

1) Von anderen Nährstoffen sind 0,2 Proz. KH_2PO_4, 0,2 $MgSO_4$ und 1 Proz. Asparagin in der Kulturlösung vorhanden.

2) In den Kulturflüssigkeiten mit Rohrzucker und Inulin fand ich keine Ansammlung des reduzierenden Zuckers.

es leicht begreiflich, daß er eine Mittelstellung zwischen den Gattungen Mucor und Rhizopus einnimmt, aber wohl am besten der letzteren zugewiesen wird.

Unser Pilz ist im Vergleich zu stellen mit Rhizopus Oryzae[1], Mucor Cambodja[2]) und Rhizopus Tritici[3]), die alle ihre Sporangienträger meist oder ausschließlich aus beliebigen Stellen des Ausläufers emporwachsen lassen. Er unterscheidet sich aber sicher von Rh. Oryzae und Mucor Cambodja dadurch, daß die Rhizoiden schwache Entwickelung zeigen und die Sporangien rauhwandig sind. Auch habe ich noch einen Vergleich unseres Pilzes mit Rh. Tritici gezogen, doch unterscheidet sich der erstere von dem letzteren in mannigfachen Beziehungen. Von morphologischen Eigentümlichkeiten ist erstens zu erwähnen, daß die Sporangienträger unserer Art meistens einfach sind, während sie sich bei Rh. Tritici häufig verschiedenartig verzweigen können. Die kuglige Anschwellung, welche oft an den Sporangienträgern des Rh. Tritici hervortritt, kommt bei Rh. oligosporus niemals zum Vorschein. Die Größenverhältnisse der einzelnen Organe bieten nebenbei auch einige unterscheidende Merkmale.

In physiologischer Hinsicht zeigt der Modus der Sporen- und Gemmenbildung bei beiden Arten eine deutliche Verschiedenheit. Bei Rh. Tritici treten die Sporen im allgemeinen reichlich hervor, während sie bei Rh. oligosporus selbst auf dem Reis nur spärlich gebildet werden. Ganz umgekehrt ist das Verhältnis mit den Gemmen, indem dieselben bei Rh. oligosporus im allgemeinen zahlreich (besonders auf dem Reis), dagegen bei Rh. Tritici relativ seltener hervortreten.

Es muß nun weiter berücksichtigt werden, daß Rh. oligosporus mit dem Chlamydomucor Oryzae[4]) in nächster Verwandtschaft steht, denn die letztere Art bildet ausschließlich Gemmen, aber ohne Andeutung der Sporangienbildung, während die Sporen bei Rh. oligosporus, wennschon nur gelegentlich, voll ausgebildet zum Vorschein kommen.

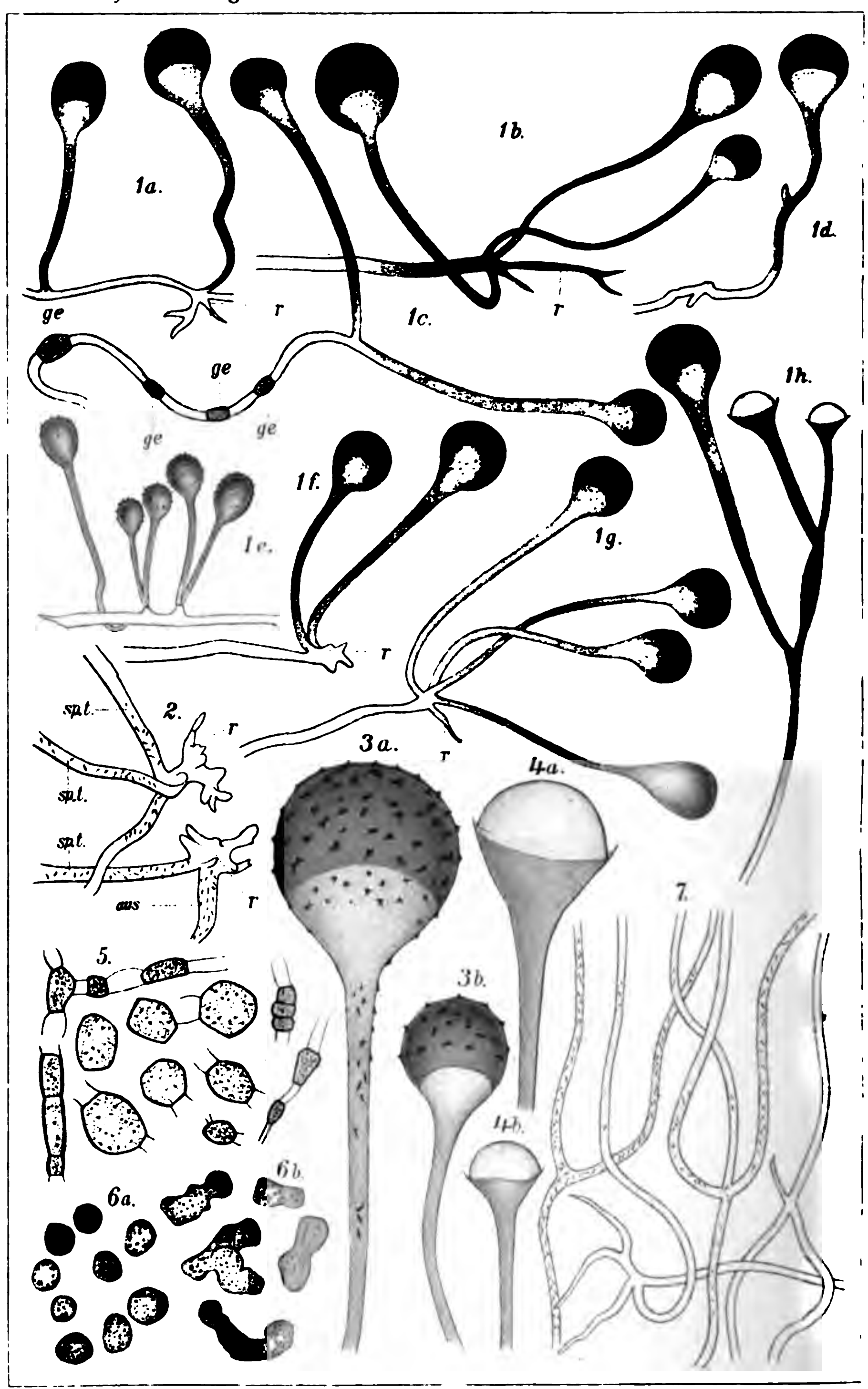
IV. Diagnose.

Rasen locker, niedrig, schneeweiß; Hyphen farblos und oft rauhwarzig. Rhizoiden wenig entwickelt, farblos oder schwach bräunlich, selten mit Querwänden. Sporangienträger zusammen mit den Rhizoiden an einem Knoten oder an beliebigen Stellen der Mycelien, klein, steif, gerade oder gebogen, meist einfach, bräunlich gefärbt und oft grobwarzig. Sporangien anfangs weiß, später schwarz, kugelig, undurchsichtig. Sporangienwand rauhwarzig, leicht zerbrechlich. Columella rund oder etwas abgeplattet, meist mit Basalkragen. Sporen kugelig bis oval, selten verschiedenartig verwachsen, graubräunlich, glattwandig. Gemmen sehr reichlich, meist kugelig bis oval, farblos, dünn- oder dickwandig und stark lichtbrechend. Zygosporen und Kugelhefen fehlen.

Wächst schnell bei 30—35° C (optimale Temperatur), verzuckert Stärke sehr kräftig, und Alkoholbildung tritt in Zuckerlösung auf.

---

1) Wehmer, C., Der javanische Ragi und seine Pilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 313.)
2) Chrząszcz, T., l. c.
3) Saito, K., l. c. p. 157.
4) Wehmer, C., Der javanische Ragi und seine Pilze. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VII. p. 313.)



K. Saito del. Verlag von Gustav Fischer, Jena. P. Weise, Lith., Jena.

Vorkommen in Reismehlkuchen aus der Stadt Kōbe, Japan (originales Material für Brennerei, stammend aus der Provinz Shan-tung, China).

Größenverhältnisse:

Sporangienträger	Länge	600 μ bis 1,1 mm	
	Dicke	10—18 μ	
Sporangiendurchmesser ca.		180 „	(bis 100 μ sinkend)
Columella		120 „	breit und 100—120 μ lang
Sporen		7—10 „	
Gemmen		18—60 „	

März 1905.

Tafelerklärung.

(Alle Figuren sind nach der Reiskultur abgebildet.)

Fig. 1 (× 52) (*a*—*k*). Verschiedene Anordnungsformen der Sporangienträger. *r* Rhizoid, *ge* Gemmen.

Fig. 2 (× 125). *r* Rhizoiden, eine derselben mit Querwand, *sp. t* Sporangienträger, *aus.* Ausläufer.

Fig. 3 (× 125) (*a*—*b*). Sporangien.
Fig. 4 (× 125) (*a*—*b*). Columella.
Fig. 5 (× 125). Gemmen.
Fig. 6 (× 560) (*a*—*b*). Sporen, *a* kuglig, *b* unregelmäßig verwachsen.
Fig. 7 (× 125). Verzweigungsformen der Luftmycelien, stellenweise rauhwandig.

Die physiologischen Wirkungen des Ozons.

Von Prof. Dr. **Wilhelm Sigmund**, Prag.

(Schluß.)

Die während und nach Ablauf der Versuchsdauer ausgeführten Beobachtungen ergaben folgende Resultate:

Raps.

Luft: Keimprozente 92, Stengel 38—50 mm lang, aufrecht, Wurzelsystem kräftig, mit gut entwickelten Nebenwurzeln und zahlreichen Wurzelhaaren, Farbe der Wurzeln rein weiß.

Ozon: Keimprozente 68, Stengel 12—33 mm lang, hinfällig, weil das Wurzelsystem schwach entwickelt ist, die Nebenwurzeln sind verkümmert und die Wurzelhaarbildung ist eine minimale, die Wurzeln sind mehr oder weniger braun.

Gerste.

Luft: Keimprozente 100, Stengellänge 8—75 mm, rein weiße Wurzeln mit zahlreichen Wurzelhaaren.

Ozon: Keimprozente 100, Stengellängen 0—20 mm, die Wurzeln sind gebräunt und nur mit einigen wenigen Wurzelhaaren bedeckt.

Erbsen und Buchweizen

zeigen in bezug auf die Keimprozente und die Entwicklung des Blattkeimes keine auffallenden Unterschiede, dagegen in der Wurzelbildung; während die Luftsamen rein weiße, normal behaarte Wurzeln aufweisen, erscheinen die Wurzeln der Ozonsamen mehr oder weniger gebräunt und fast ohne Wurzelhaare.

Versuche mit Vicia sativa vom 15. März bis 7. April.

Ozonisation: Vom 15. bis 20. März täglich eine halbe Stunde, Geschwindigkeit des Luftstromes 6 l pro Stunde, Ozongehalt 0,9 mg O_3 pro Liter; vom 21. bis 25. März erfolgte die Ozonisierung täglich 16

Stunden lang, wobei pro Stunde 10 l Luft mit 0,3 mg O_3 pro Liter die Glocke passierten. Durch die Kontrollglocke wurde unter denselben Bedingungen gewöhnliche Luft geleitet.

Der Hauptunterschied zwischen den Luft- und Ozonkeimpflänzchen konzentrierte sich wieder auf das Wurzelsystem; während die Luftsamen rein weiße Wurzeln mit Wurzelhaaren entwickelten, waren die Wurzeln der Ozonsamen gebräunt und ohne Wurzelhaare. Bei den Stengeln fielen dunkelbraune Flecke an den Spitzen derselben in der Ozonglocke auf.

Die gebräunten und wurzelhaarlosen Wurzeln der ozonisierten Keimpflänzchen wurden einer mikroskopischen Untersuchung unterzogen, wobei sich ergab, daß die Epidermiszellen und die darunter liegende erste Zellschicht abgestorben war; ebenso die Wurzelspitze.

Die unbehandelten und ozonisierten Keimlinge wurden dann (am 25. März) in den Keimschrank gebracht und unter normalen Bedingungen weiter keimen gelassen.

Die bis zum 7. April durchgeführten Beobachtungen ergaben, daß die ozonisierten, braungefärbten Wurzeln in ihrem Längenwachstum stationär blieben und keine Wurzelhaare bildeten, dagegen entwickelten sie zahlreiche Nebenwurzeln von rein weißer Farbe und mit Wurzelhaaren bedeckt. Diese Beobachtung stimmt auch mit dem mikroskopischen Befunde überein, indem die Nebenwurzeln nicht, wie die Wurzelhaare, den Epidermiszellen entspringen.

Es wurde nun weiter untersucht, bei welchem Ozongehalt keine Schädigung des Keimungsprozesses mehr stattfindet, bezw. wann sich eine günstige Wirkung auf den Verlauf der Keimung einstellt. Zu diesem Behufe wurde bei den folgenden Versuchen die Ozonisationsdauer immer mehr herabgesetzt.

Versuch vom 18. März bis 7. April.

Versuchssamen: je 50 Senf (weiß, *Sinapis alba*), je 30 Gerste und je 18 Erbsen.

Ozonisationsdauer: durch 8 Tage täglich 45 Minuten, Geschwindigkeit des Luftstromes 6 l pro Stunde, Ozongehalt 1,4 mg O_3 pro Liter.

Inhalt der beiden Versuchsglocken je 6 l.

Die nach Ablauf der Ozonisationsdauer ausgeführten Beobachtungen ergaben, daß die Ozonsamen in ihrer Entwickelung gegen die Luftsamen etwas zurückblieben; auch fielen wieder die gelb bis braun gefleckten, mit wenig Wurzelhaaren besetzten Wurzeln der ozonisierten Samen im Vergleich zu den rein weißen und meist mit zahlreichen Wurzelhaaren bedeckten Wurzeln der Kontrollsamen auf.

Vom 26. März an bis 7. April wurden die Versuchssamen in den Keimschrank gebracht. Die ozonisierten Samen haben sich sämtlich erholt, die Wurzeln wuchsen in die Länge, also war die Wurzelspitze nicht abgetötet, und entwickelten rein weiße Wurzeln mit Wurzelhaaren, nur die gebräunten Teile der Wurzeln zeigten keine Wurzelhaarbildung mehr.

Versuche vom 7.—30. Mai.

Die Versuchssamen: Erbsen, Gerste, Mais und *Helianthus* befanden sich unter zwei Glocken von je 10 l Inhalt; durch die eine wurde täglich 20 Minuten lang ozonisierte Luft geleitet mit einer Geschwindigkeit von 10 l pro Stunde und 0,3 mg O_3 pro Liter, durch die Kontrollglocke unter denselben Bedingungen gewöhnliche Luft.

Die Versuchsergebnisse waren den vorigen ähnlich, indem auch hier eine geringe Schädigung der Ozonsamen beobachtet wurde, ebenso wurde

auch hier wieder eine viel schwächere Wurzelhaarbildung, insbesondere bei Helianthus und Mais wahrgenommen.

Ein ähnliches Resultat lieferte auch die folgende Versuchsreihe, die unter denselben Bedingungen ausgeführt wurde, wie die letzte, nur wurde täglich statt 20 nur 12 Minuten ozonisierte und gewöhnliche Luft durch die beiden Glocken geleitet, die Geschwindigkeit und der Ozongehalt der Luft blieben dieselben; der Schädigungsgrad der Ozonsamen war zwar ein noch geringerer als bei der letzten Versuchsreihe, aber doch deutlich wahrnehmbar.

Erst nachdem die tägliche Ozonisationsdauer auf 6 Minuten herabgesetzt wurde, wobei täglich 1 l ozonisierte Luft mit 0,3 mg O_3 zur Einwirkung gelangte, trat die bisher allgemein schädigende Wirkung des Ozons zurück, wie folgender Versuch zeigt:

Versuchszeit: 9.—21. Juni.

Ozonisationsdauer: durch 12 Tage täglich 6 Minuten.

Geschwindigkeit des Luftstromes: 10 l pro Stunde.

Ozongehalt: 0,3 mg pro Liter.

Versuchssamen: Erbsen, Mais, Buchweizen und Senf (weiß).

Außer während der täglichen Ozonisationsdauer von 6 Minuten wurde noch durch 1—2 Stunden täglich gewöhnliche Luft durch die beiden Glocken geleitet.

Die Beobachtungen ergaben folgendes: In den Keimprozenten ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede, in der Entwickelung des Blattkeims erschien Ozonmais etwas verzögert, Erbsen waren gleich, Senf und Buchweizen zeigten eine kleine Beschleunigung, die durchschnittlichen Stengellängen betrugen am 12. Versuchstage bei

Ozonsenf	60 mm	Ozonbuchweizen	101 mm
Kontrollsenf	56 „	Kontrollbuchweizen	85 „

Dagegen war wieder die Wurzelhaarbildung bei sämtlichen Versuchssamen in der Ozonglocke geringer.

Endlich wurden Versuche ausgeführt, bei welchen die Ozonisationsdauer auf 3 Minuten täglich herabgesetzt wurde.

Versuch vom 23. Juli bis 11. August.

Versuchssamen: je 10 Erbsen, Pferdebohnen (Vicia Faba), Gerste, Raps und Senf (weiß).

Geschwindigkeit des Luftstromes 10 l pro Stunde, Ozonisationsdauer durch 18 Tage täglich 3 Minuten, wobei $^1/_2$ l ozonisierte Luft mit 0,15 mg O_3 die Glocke passierte. Außerdem wurde durch beide Glocken ununterbrochen gewöhnliche Luft geleitet.

Beobachtungen: In der Entwickelung des Blattkeims waren Gerste, Raps und Senf ziemlich gleich, dagegen zeigte sich eine Beschleunigung des Stengelwachstums bei Vicia Faba und noch mehr bei Erbsen, die durchschnittlichen Stengellängen betrugen bei Lufterbsen 76 mm und bei Ozonerbsen 157 mm.

Was die Ausbildung des Wurzelsystems anbelangt, so war bei sämtlichen Ozonsamen die Wurzelhaarbildung geringer als bei den Luftsamen. Diese Erscheinung zeigte sich nicht bloß bei der makro- und mikroskopischen Untersuchung der Wurzeln, sondern dokumentierte sich auch dadurch, daß beim Herausziehen der Keimpflanzen aus dem Sand an den Wurzeln der unter der Luftglocke befindlichen Keimpflanzen mehr Sand hängen blieb als an denjenigen unter der Ozonglocke.

Als das auffallendste Resultat der Versuche über die Einwirkung des Ozons auf die Keimung muß die große Empfindlichkeit der Wurzelhaare

gegen Ozon bezeichnet werden. Denn bei dem letzten Versuche wurde täglich nur $^1/_2$ l ozonisierte Luft mit 0,15 mg O_3 pro Liter durch die 10 l fassende Glocke geleitet, so daß die Luft in der Glocke nur 0,015 mg O_3 pro Liter oder 0,005 mg O_1 d. h. aktiven Sauerstoff pro Liter enthielt. Aber auch diese minimale Menge war nur vorübergehend während einiger Augenblicke wirksam, denn abgesehen davon, daß die unter der Glocke befindliche organische Substanz der Samen bezw. der Keimpflanzen einen Teil des Ozons sofort zerstörte, so wurde durch die Glocke ununterbrochen gewöhnliche Luft mit einer Geschwindigkeit von 10 l pro Stunde geleitet und dadurch der Ozongehalt ebenfalls stetig vermindert, so daß längstens innerhalb einer Stunde die ozonisierte Luft durch gewöhnliche ersetzt war, und es war daher der Verdünnungsgrad des Ozons unter der Glocke in Wirklichkeit ein noch viel geringerer. Auch der übrige Verlauf des Keimungsprozesses wurde durch Ozon geschädigt, doch war die Empfindlichkeit eine geringere; der schädliche Einfluß auf die Keimprozente, die Entwickelung des Blattkeims u. s. w. hörte bei einem Gehalt von 0,03 mg O_3 pro Liter Luft auf, von diesem Ozongehalt abwärts verlief der Keimungsprozeß entweder nahezu normal, oder zeigte bei einzelnen Samen eine Beschleunigung in der Entwickelung des Blattkeims.

Von Interesse ist es, daß, wie ich nachträglich erfuhr, Dixon[1]) in Dublin bei seinen Versuchen über die Einwirkung der Radiumstrahlen auf die Keimung ähnliche Beobachtungen machte, wie ich bei der Ozonwirkung, insbesondere hat auch er eine geringere Wurzelhaarbildung wahrgenommen. Es würde sich also das in physikalischer Beziehung beobachtete analoge Verhalten zwischen Radium und Ozon[2]) auch auf das physiologische Gebiet erstrecken.

Es wurde noch die Einwirkung des Ozons auf die den Rübenknäueln anhaftenden Mikroorganismen untersucht, welch letztere als Erreger gewisser Krankheiten des Rübenkeimlings, insbesondere des Wurzelbrandes, angesehen werden. Da das Ozon auf die Mikroorganismen in trockenem Zustande nicht einwirkt, so wurden die vorgequellten Rübenknäuel noch feucht ozonisiert. Zu den Versuchen wurden Samen verwendet, die unter normalen Bedingungen in Sand keimen gelassen hohe Prozente von kranken Keimpflanzen lieferten.

Versuche.

Versuche vom 15.—26. März.

50 durch 20 Stunden vorgequellte Rübenknäuel wurden noch feucht in eine Röhre gebracht und über dieselben 2 Stunden lang ozonisierter Sauerstoff geleitet, Geschwindigkeit 1,2 l pro Stunde, Ozongehalt 1,2 mg O_3 pro Liter, zusammen 2,9 mg O_3. Die Kontroll-Rübenknäuel, die ebensolange vorgequellt wurden, waren während dieser Zeit auf einer Glasplatte ausgebreitet. Die ozonisierten und unbehandelten Rübenknäuel wurden dann in ausgeglühtem Quarzsand zur Keimung aufgestellt.

Die Versuchsergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

1) Vergl. Prometheus, Jahrg. XV. 1904. p. 507.

2) Vergl. Richarz, F. und Schenck, R., Ueber Analogieen zwischen Radioaktivität und dem Verhalten des Ozons. (Sitzungsber. d. Berliner Akad. d. Wiss. 1903, p. 1102; Naturwiss. Rundschau, Jahrg. XIX. 1904. p. 59.)

	Zahl der Keimpflanzen	Gesunde	Proz.	Kranke	Proz.	Leichtkranke	Proz.	Schwerkranke	Proz.
Am 6. Tage:									
Luft	43	19	44,18	24	55,82	24	100,00	—	—
Ozon	20	12	60,00	8	40,00	8	100,00	—	—
Am 11. Tage:									
Luft	61	28	45,90	33	54,10	15	45,45	18	54,55
Ozon	57	28	49,12	29	50,88	14	48,27	15	51,73

Versuche vom 6. bis 20. Juni.

Die Rübenknäuel waren wieder sehr krank, sie wurden 18 Stunden vorgequellt; im übrigen war die Versuchsanordnung dieselbe wie vorhin, die einwirkende Ozonmenge war jedoch größer, nämlich 4 mg O_3. Die Versuchsergebnisse sind in folgender Tabelle enthalten.

	Zahl der Keimpflanzen	Gesunde	Proz.	Kranke	Proz.	Leichtkranke	Proz.	Schwerkranke	Proz.
Am 5. Tage:									
Luft	25	17	68,00	8	32,00	8	100,00	—	—
Ozon	15	11	73,33	4	26,67	4	100,00	—	—
Am 9. Tage:									
Luft	32	5	15,62	27	84,38	22	81,48	5	18,52
Ozon	31	10	32,25	21	67,75	18	85,71	3	14,29
Am 14. Tage:									
Luft	42	7	16,66	35	83,34	15	42,85	20	57,15
Ozon	45	11	24,44	34	75,56	16	47,06	18	52,94

Wie aus diesen Tabellen ersichtlich ist, setzte das Ozon die Keimungsenergie herab, denn die Zahl der Keimpflanzen war anfangs bei den Ozonsamen viel geringer als bei den Luftsamen, doch war diese Wirkung nur eine vorübergehende, denn im weiteren Verlauf der Keimung haben sich diese Zahlen ausgeglichen. Das Verhältnis zwischen gesunden und kranken Keimlingen war ein wenig zu Gunsten der ozonisierten Knäuel verschoben, indem die letzteren etwas mehr Prozente gesunder Keimpflanzen lieferten.

2. Einwirkung des Ozons auf Blätter und Blüten.

Ueber die Einwirkung des Ozons auf Blätter und Blüten fand ich in der Literatur gar keine Angaben vor.

Die Versuchsobjekte erhielt ich zum großen Teil aus dem botanischen Garten mit freundlicher Genehmigung des Direktors desselben, Herrn Prof. Dr. Goebel. Die frischen und intakten Pflanzenteile wurden bei Anwendung von ozonisierter Luft unter Glasglocken, bei Versuchen mit ozonisiertem Sauerstoff in Cylinder gebracht, deren Höhe und Durchmesser der Größe der Versuchsobjekte angepaßt wurden, stets tauchten ihre Stengel in etwas Wasser. Die Kontrollobjekte wurden in Glocken bezw. Cylinder von gleicher Größe gebracht, und durch dieselben gewöhnliche Luft bezw. reiner Sauerstoff geleitet; außerdem wurde noch ein drittes Vergleichsobjekt frei stehen gelassen.

Zunächst untersuchte ich die Einwirkung des Ozons auf 8—14 Tage alte Keimpflanzen, die ich einer stärkeren Ozonisation aussetzte, als dies bei den Keimversuchen der Fall war; sie wurden mit ozonisiertem

Sauerstoff mit 2 mg O_3 pro Liter behandelt. Untersucht wurden die Keimpflanzen von Hordeum vulgare, Phleum pratense, Zea Mays, Pisum sativum, Vicia Faba und sativa, Sinapis alba, Polygonum Fagopyrum und Picea excelsa.

Auf die Blätter von Hordeum äußerte das Ozon eine bleichende Wirkung, schon nach $^1/_4$-stündigem Verweilen in dem mit ozonhaltigem Sauerstoff gefüllten Cylinder traten weiße Flecke auf, nach etwa einer Stunde war das ganze Blatt gebleicht; ähnlich war die Wirkung auf Phleum. Bei den übrigen genannten Keimpflanzen trat selbst nach 2-tägigem Aufenthalt derselben in der ozonhaltigen Atmosphäre keine bleichende Wirkung auf; die Ozonwirkung äußerte sich vielmehr in Form von kleinen Flecken von brauner bis schwarzer Farbe auf den sonst grünen Blättern.

Ein blühender (lila) und beblätterter Zweig von Syringa zeigte nach 24-stündiger Einwirkung von zusammen 6 mg O_3 auf den Blättern kleine schwarze, auf den Blüten braune Flecke. Je ein gelb und rot blühender, beblätterter Zweig von Aesculus unter denselben Bedingungen ozonisiert, wies auf den Blättern schwarze, punktförmige Flecke auf, die sich bei fortgesetzter Ozonisierung etwas erweiterten; die Blüten waren braun gefleckt. Aehnlich war die Wirkung auf die Blätter und Blüten von Crataegus.

Sehr widerstandsfähig waren die Blätter von Iris germanica, die selbst nach 3-tägiger Einwirkung des Ozons keine Aenderungen aufwiesen; die Blüten dagegen erschienen mehr oder weniger welk, mit Wasser zusammengebracht, färbten sie es blau, die Kontrollblüten zeigten diese Erscheinung nicht. Cytisus Laburnum zeigte nach 3-tägigem Verweilen in der Ozonglocke auf den Blättern kleine schwarzbraune, auf den Blüten weiße Flecke.

Die roten Blütenblätter von Papaver somniferum, die in einen Cylinder von 1 l Inhalt gebracht wurden, zeigten nach 8 Stunden, wobei derselbe zweimal mit ozonisiertem Sauerstoff, zusammen mit 4 mg O_3 gefüllt wurde, weiße Flecke von 0,5—3 mm Durchmesser; das vollständige Entfärben der Blüte gelang selbst durch größere Ozonmengen nicht.

Die Blätter von Juglans regia, Coryllus Avellana, Acer platanoides, Viburnum opulus, Taraxacum officinale, Diospyros zeigten sämtlich anfangs kleinere, meist punktförmige, bei stärkerer Ozonisation sich erweiternde, etwas größere Flecke von dunkelbrauner bis schwarzer Farbe. Die Blätter von Populus alba zeigten nur oberseits braunschwarze Flecke, die weichfilzige Unterseite blieb unverändert. Die Blätter von Catalpa wurden durch Ozon zum Teil gebleicht. Die Blätter von Scolopendrium vulgare wiesen braune, geätzte Flecke auf.

Da sich das Chlor in mancher Beziehung dem Ozon ähnlich verhält, so wurden auch Parallelversuche mit Chlor ausgeführt, indem die Blätter und Blüten unter eine Glocke von 10 l Inhalt gebracht wurden, welche 2—3 mg Chlor pro Liter Luft enthielt.

Die ozonisierten und mit Chlor behandelten Keimpflanzen von Hordeum vulgare ergaben folgende Unterschiede: Die durch Ozon gebleichten Stellen waren rein weiß, die durch Chlor gelblich bis grauweiß; die nicht gebleichten Stellen bei Ozon rein grün, bei Chlor graugrün. Die Blättchen der Keimpflanzen von Vicia Faba zeigten bei Ozon schwarze Flecke auf grünem Grund, bei Chlor waren die Blättchen fast über die ganze Fläche gebräunt.

Zweige von Betula alba ergaben nach einem 24-stündigen Verweilen in einer ozon- und chlorhaltigen Atmosphäre folgende Unterschiede: Die Ozonblätter waren grün mit kleinen dunkelbraunen Flecken, die Chlorblätter graugrün mit größeren braunen Flecken. Auch die Blätter von Vitis und Spiraea zeigten bei Ozon kleine dunkelbraune, bei Chlor heller braune Flecke.

Die Blätter von Potamogeton waren bei Ozon dunkelbraungrün, die Chlorophyllkörner erschienen unter dem Mikroskop mehr oder weniger gebräunt; bei Chlor waren die Blätter hellgraugrün, zum Teil gebleicht, die Chlorophyllkörner erschienen unter dem Mikroskop bloß heller grün im Vergleich zu den unbehandelten Blättern.

Es wurde dann die Einwirkung des Ozons auf Riechstoffe untersucht. Zu diesem Behufe wurde das Ozon auf frische blühende Zweige von Rosa centifolia, Thymus vulgaris und Serpyllum, Ruta graveolens, Melilotus officinalis, Philadelphus coronarius und Tilia einwirken gelassen; sie wurden in drei Cylinder von je 2 l Inhalt verteilt und diese im Laufe von 3 Tagen 5mal mit ozonisiertem Sauerstoff (2 mg O_3 pro Liter) gefüllt. Den Geruch hat keine der genannten Pflanzen eingebüßt, seine Intensität, verglichen mit den Kontrollpflanzen, wurde entweder gar nicht herabgesetzt, wie bei Ruta, oder nur etwas geschwächt, wie bei Thymus vulgaris. Die Blätter zeigten wieder kleine, häufig punktförmige dunkelbraune bis braunschwarze Flecke, auch die flügelartigen Hochblätter von Tilia waren braun gefleckt; die Blüten erschienen wenig affiziert.

Das Chlor wirkte weit energischer desodorisierend; alle die oben genannten Versuchsobjekte haben ihren Geruch ganz oder zum großen Teil eingebüßt. Auch die Wirkung der Brennessel auf die Haut wurde durch Chlor mehr geschwächt als durch Ozon.

Es wurde noch die Einwirkung des Ozons auf Lemna und Utricularia untersucht; erstere wurde in zwei Bechergläser von $^1/_2$ l Inhalt und 150 ccm Wasser gebracht, letztere in zwei je 1 l fassende Bechergläser, welche zur Hälfte mit Wasser gefüllt waren; das Ozon wurde mittels einer Glasröhre, die bis auf den Boden reichte, in das Wasser geleitet. Bei Lemna wurde das Wasser durch 3 Tage täglich mit Ozon gesättigt; die grünen Vegetationskörper erschienen braun gefleckt, die Würzelchen fielen zum großen Teil ab; die Kontrollpflänzchen zeigten diese Erscheinungen nicht. Viel widerstandsfähiger erwies sich Utricularia; das Wasser wurde während 18 Tage mit Ozon gesättigt, ohne daß eine auffallende Veränderung eingetreten wäre, nur eine geringe bleichende Wirkung konnte wahrgenommen werden, indem die ozonisierte Utricularia heller grün erschien als die Kontrollpflanze.

Im allgemeinen ergaben die ausgeführten Versuche folgende Resultate: Die durch Ozon geschädigten Blätter sind je nach der Dauer und Intensität der Ozonisierung meist charakterisiert durch dunkelbraune bis braunschwarze kleinere, oft punktförmige oder größere Flecke ohne Ränderungen, wodurch sie sich wesentlich von den durch SO_2 und HCl bewirkten, meist geränderten und gelb bis rotbraun gefärbten Flecken unterscheiden. Eine bleichende Wirkung des Ozons auf die Blätter konnte nur selten und meist nur auf ganz jugendliche Blattorgane (insbesondere bei Hordeum) beobachtet werden: auch die Blütenfarbstoffe zeigten sich sehr widerstandsfähig, meist war eine längere und stärkere Ozonisation notwendig, um auch nur eine teilweise Entfärbung der Blüten zu bewirken; ebenso widerstanden auch die Riechstoffe der

Blätter und Blüten in hohem Maße der desodorisierenden Kraft des Ozons. Die durch Chlor geschädigten Blätter waren trotz mancher Aehnlichkeit durch die Farbe und die Verteilung der Flecke von den durch Ozon geschädigten verschieden; die bleichende Wirkung war bei Chlor etwas stärker als bei Ozon; die gebleichten Stellen der Blätter erschienen bei Chlor grau- bis gelblichweiß, während sie bei Ozon rein weiß waren; auch die Riechstoffe wurden von Chlor energischer angegriffen als von Ozon.

3. Versuche über das Vorkommen von Ozon in der Pflanze.

Die auffallende Erscheinung, daß im Pflanzen- und Tierkörper energische Oxydationsprozesse stattfinden bei Temperaturen, bei welchen der gewöhnliche Sauerstoff die in Frage kommenden oxydablen Körper unverändert läßt und zu deren Verbrennung er erst durch hohe Hitzegrade befähigt wird, hat schon früh die Physiologen und Chemiker beschäftigt und zu einer Erklärung angeregt. Es war naheliegend, daß Schönbein seine neu entdeckte Modifikation des Sauerstoffes zur Erklärung der Oxydationsvorgänge im pflanzlichen und tierischen Organismus heranzuziehen suchte.

Die Frage nach der Bildung ozonhaltigen Sauerstoffs in pflanzlichen Geweben war der Gegenstand zahlreicher Untersuchungen und wurde teils in positivem, teils in negativem Sinne beantwortet. Die Gegenwart ozonhaltigen Sauerstoffes glaubten nachgewiesen zu haben Schönbein, Scoutetten, Luca, Kosmann, Brame, Poey, Daubeny, Griessmayer[1]), ferner Reinke[2]), Wurster[3]) u. a. Negative Resultate lieferten die Arbeiten von Cloëz, Mulder, Huizinga, Belluci, Fautrat[4]); nach den Untersuchungen Pfeffers[5]) läßt sich das Ozon in Pflanzensäften überhaupt nicht nachweisen.

Es ist auch von vornherein wenig wahrscheinlich, daß sich Ozon bei Gegenwart oxydabler Substanzen bilden könnte und noch weniger, daß sein Nachweis unter diesen Bedingungen möglich wäre. Bei denjenigen Untersuchungen, die eine positive Ozonreaktion ergaben, ist auch zu beachten, daß sie mit Reagentien ausgeführt wurden, die nicht nur die Gegenwart des Ozons, sondern auch vieler anderer Stoffe anzeigen können; ich habe daher die diesbezüglichen Versuche mit einem neuen, von Arnold und Mentzel[6]) angegebenen spezifischen Ozonreagens wiederholt und, wie zu erwarten, ein negatives Resultat erhalten.

Es wurden Samen, Knollen, Zwiebel, Keimpflanzen, Blätter, Hefe (unter Zusatz von Quarzsand) mit Wasser zerrieben und direkt als auch die Filtrate mit dem oben angeführten Reagens geprüft; es trat weder gleich noch nach einiger Zeit die Ozonreaktion ein.

Auch habe ich Blätter sowohl lebender Pflanzen als auch abgeschnittene, deren Stiele ins Wasser tauchten, zwischen zwei Ozonreagenzpapieren und zwei Glasplatten (Objektträger), die mittels Klemmen zusammengehalten wurden, mehrere Stunden lang untersucht, ohne eine Ozonreaktion wahrnehmen zu können.

---

1) Vgl. C. Engler, Histor. Krit., Studien über das Ozon. p. 27 d. Sep.-Abdr.
2) Reinke, Botan. Ztg. 1883. p. 65.
3) Wurster, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Jahrg. XIX. 1886. p. 3198.
4) Engler, C., l. c. p. 28.
5) Pfeffer, W., Oxydationsvorgänge in lebenden Zellen. (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Jahrg. VII. 1889. p. 82.)
6) Arnold, C. und Mentzel, Alte und neue Reaktionen des Ozons. (Ber. d deutsch. chem. Ges. Jahrg. XXXV. 1902. p. 1324.) Dieselben, Verbesserte Reaktionen und Darstellungsmethoden des Ozons; Ursol D als Reagens auf Ozon. (Ebenda. p. 2902.)

Die neueren Erklärungsversuche der Autoxydationsprozesse sind im nächsten Abschnitt angeführt.

V. Einwirkung des Ozons auf Tiere.

Ueber die Einwirkung des Ozons auf Menschen und Tiere, insbesondere warmblütige, liegen zahlreiche Untersuchungen vor. Schon der Entdecker des Ozons, Schönbein, beobachtete eine schädliche Wirkung desselben auf die Atmung.

Die ältere Literatur umfaßt die Arbeiten von Schwartzenbach (1850), Scoutetten (1856), Boeckel (1856), Redfern (1857), Ireland (1863), Häcker (1863), Richardson (1865), Houzeau (1872), Dewar und Kendrick (1873), Eulenberg (1876), Thenard (1879), Barlow (1879), Liebreich (1880), Barbon (1881)[1]. Die wesentlichen Resultate dieser Arbeiten sind: Das Ozon greift die Atmungsorgane heftig an und ist für kleinere Tiere ein mehr oder weniger tödliches Gift.

Binz (l. c.) beobachtete, daß die Versuchstiere (insbesondere Frosch und Katze) in einen schlafähnlichen Zustand versetzt wurden, ohne daß die Luftwege Reizungen und Blutungen aufwiesen, er machte daher auch Versuche an Menschen und konnte auch hier den Eintritt von Schläfrigkeit bezw. Schlaf wahrnehmen. Bei größeren Ozonmengen traten außer heftigem Husten auch Brechneigung und Würgbewegungen auf.

Nach Filipow[2] ist Ozon kein einschläferndes Mittel und für Menschen und Tiere schädlich.

Die Arbeiten von Aug. Meyer[3], H. Schulz[4] und K. Du Mont[5] bestätigten jedoch die Versuchsergebnisse von Binz, wonach das Ozon insbesondere auf das Gehirn einwirkt, und daß es selbst in Fällen, wo sich schwere Störungen im Verhalten der Atmungsorgane zeigten, keine gröberen anatomischen Störungen der Lungen und der Luftwege hervorrief, auch fand keine Verletzung oder pathologische Veränderung von Larynx und Trachea statt.

Wird nach Jaworski[6] ozonhaltige Luft durch die Schlundsonde in den Magen geleitet, so zeigt die heraufgebrachte Flüssigkeit eine geringere alkalische Reaktion als vor der Ozonwirkung. Nach Labbé und Oudin[7] kann das auf elektrischem Wege erzeugte Ozon

1) Vergl. Engler, C., Historisch-kritische Studien über das Ozon. Halle 1879. p. 57 d. Sep.-Abdr. Binz, C., Ozonisierte Luft, ein schlafmachendes Gas (Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. 1882. p. 6, 17 u. 647.) Derselbe, Die Wirkung ozonisierter Luft auf das Gehirn. (Ebenda. Jahrg. 1884. p. 633.)

2) Filipow, M., Zur therapeutischen Bedeutung von Sauerstoff und Ozon. (Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. XXXIV. p. 335. Malys Jahresbericht f. Tierchemie. Bd. XIV. 1884. p. 396. Vergl. auch Binz, C., Berliner klin. Wochenschr. Jahrg. 1884. p. 633.

3) Meyer, August, Experimentelle Studien über den Einfluß des Ozons auf das Gehirn. Dissert. Bonn, 1883.

4) Schulz, Hugo, Ueber chronische Ozonvergiftung. (Archiv f. exp. Pathologie u. Pharmakologie. Bd. XXIX. p. 364.)

5) Du Mont, Karl, Chronische Ozonvergiftung. Dissert. Greifswald, 1891.

6) Jaworski, W., Experimente über das Verhalten der Kohlensäure, des Sauerstoffs und des Ozons im menschlichen Magen. (Zeitschr. f. Biologie. Bd. XX. p. 234. Malys Jahresbericht. Bd. XIV. 1884. p. 303.)

7) Labbé, D. und Oudin, Ueber das Ozon vom physiologischen und therapeutischen Gesichtspunkt. (Compt. rend. T. CXIII. p. 141. Malys Jahresbericht. Bd. XXII. 1892. p. 64.)

zu 0,011—0,012 mg pro Liter ohne Schaden eingeatmet werden; der Hämoglobingehalt soll dabei, insbesondere bei subnormalem Gehalt, vorübergehend erhöht werden. Peyron[1]) beobachtete an Hunden, welche mehrere Wochen täglich 2—3 Stunden stark ozonisierte Luft einatmeten, eine gesteigerte Harnstoffausscheidung. Butte und Peyron[2]) fanden an denselben Versuchstieren unter dem Einfluß der Einatmung von Ozon eine Herabsetzung des Gaswechsels in den Geweben und eine Verringerung des Zuckerverbrauches. Nach Bordier und Baur[3]) wird durch Inhalation von Ozon (0,23 mg pro Liter Luft) bei Meerschweinchen und Kaninchen weder bei gesunden noch bei durch Aderlässe anämisch gemachten Tieren die Zahl der roten Blutkörperchen beeinflußt.

Ueber das Vorkommen von Ozon im Tierkörper, insbesondere im Blute der Warmblüter wurden zahlreiche Untersuchungen ausgeführt; die scheinbar positiven Ergebnisse, wie die von Schmidt[4]) beobachtete Bläuung eines mit Guajaktinktur bestrichenen Filtrierpapiers durch Blut, haben zu der Annahme geführt, daß die energischen Oxydationsvorgänge im tierischen Organismus dadurch zu stande kommen, daß ein Teil des eingeatmeten Sauerstoffs in Ozon umgewandelt werde. Weitere Untersuchungen, insbesondere jene von Pflüger und seinen Schülern, haben jedoch die Unhaltbarkeit dieser Ansicht dargetan[5]).

Es erscheint auch a priori ganz unmöglich, daß sich im Organismus unter den Bedingungen, wie sie dort herrschen, Ozon bilden könnte; denn jedes frei werdende Sauerstoffatom würde sofort von den zahlreichen oxydablen Substanzen gebunden werden, noch bevor es mit einem Sauerstoffmolekül zu einem Ozonmolekül zusammentreten könnte. Nichtsdestoweniger ist zur Erklärung der lebhaften Oxydationsprozesse im Pflanzen- und Tierkörper die Annahme einer Art Aktivierung des gewöhnlichen Sauerstoffs unvermeidlich.

Nach Hoppe-Seyler[6]) sind es reduzierende Substanzen, insbesondere naszierender Wasserstoff, welche die Aktivierung des molekularen Sauerstoffs bewirken. Mit dieser Theorie der Aktivierung des Sauerstoffs durch reduzierende Substanzen würde auch die Ansicht vieler Physiologen übereinstimmen, daß das Hämoglobin sein Eisen in Form einer leicht oxydablen Oxydulverbindung enthielte; ferner die Annahme von Bertrand[7]), wonach die Oxydasen eiweißartige Manganverbindungen sind, bei welchen das Mangan als Oxydul die Rolle eines Sauerstoffüberträgers spiele.

Nach Traube[8]) erfolgt die Aktivierung des Sauerstoffs nicht durch

---

1) Peyron, J., Influence de l'ozone sur la production de l'urée. (Compt. rend. soc. biol. T. XLVI. p. 436. Malys Jahresbericht. Bd. XXIV. 1894. p. 555.)

2) Butte et Peyron, Action de l'ozone sur la nutrition élémentaire. (Compt. rend. soc. biolog. T. XLVI. p. 602. Malys Jahresbericht. Bd. XXIV. 1894. p. 556.)

3) Bordier, H. und Baur, Experimentelles Studium der Einwirkung von Ozon auf die Zahl der Blutkörperchen. (Journ. de physiol. T. IV. p. 277. Malys Jahresbericht. Bd. XXXII. 1902. p. 185.)

4) Schmidt, Alex., Ueber Ozon im Blute. Dissert. Dorpat, 1862.

5) Vergl. Pflüger, E., Ueber die physiologische Verbrennung in den lebenden Organismen. (Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. X. 1875. p. 251.)

6) Hoppe-Seyler, F., Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. II. p. 24. (Berichte d. Deutschen chem. Ges. Jahrg. XII. 1879. p. 1551.)

7) Bertrand, G., Compt. rend. T. CXXIV. 1897. p. 1356.

8) Traube, M., Ueber die Aktivierung des Sauerstoffs. (Berichte d. Deutschen chem. Ges. Jahrg. XV. 1882. p. 660.)

Spaltung der Sauerstoff-, sondern der leichter zerlegbaren Wassermoleküle; diese Theorie würde nur die bei Gegenwart von Wasser verlaufenden Autoxydationen erklären.

Nach der Peroxydtheorie von Bach[1]) und von Engler[2]) werden bei Autoxydationsprozessen Sauersoffmoleküle aufgenommen, welche unter Sprengung der doppelten Bindung des Moleküls Superoxydverbindungen $\left(\begin{matrix} R-O \\ | \\ R-O \end{matrix}\right.$ oder $\left. R\langle \begin{matrix} O \\ | \\ O \end{matrix} \right)$ bilden, welche die Hälfte ihres Sauerstoffs zur Oxydation anderer Körper abgeben. Ueber die Rolle der Peroxyde in der Chemie der lebenden Zelle haben in neuester Zeit Chodat und Bach[3]) Untersuchungen ausgeführt.

Versuche über die Einwirkung des Ozons auf Tiere.

Die Versuchstiere wurden bei Versuchen mit ozonisierter Luft unter Glocken von 6 l Inhalt, bei Versuchen mit ozonisiertem Sauerstoff in Bechergläser oder weithaltige Glasgefäße gebracht; in allen Fällen wurde dafür gesorgt, daß eine Kohlensäureanhäufung bezw. eine Vergiftung durch dieselbe ausgeschlosseu erschien.

Versuche mit weißen Mäusen.

Nach den bisherigen Untersuchungen soll das Ozon ein heftiges Gift für kleine Tiere sein, die es schon nach kurzer Zeit tötet; nach Fox können Mäuse schon in einer Luft mit $^1/_{6000}$ Ozon nicht leben[4]). Auch Troizny[5]) beobachtete eine höchst schädliche Wirkung des Ozons auf Mäuse und Ratten, in einer Luft mit 0,3—0,45 pro Mille Ozon sollen sie nicht länger als 1 Stunde leben können.

Bei meinen Versuchen erfolgte die Ozonisierung durch 7 Tage, an 5 Tagen täglich 1 Stunde, an einem Tage 2 Stunden, wobei das Versuchstier nach Ablauf der Ozonisationsdaner an gewöhnliche Luft gebracht wurde; am letzten Versuchstage dagegen verblieben die Versuchstiere von 10 Uhr vormittags bis 6 Uhr abends in der Ozonglocke, welche innerhalb dieser Zeit 4mal mit ozonisierter Luft gefüllt wurde; die Geschwindigkeit des ozonisierten Luftstromes betrug 10 l pro Stunde, der Ozongehalt 0,3 mg pro Liter. Es wurde immer dasselbe Tier ozonisiert; das Kontrolltier blieb zum Vergleich an gewöhnlicher Luft, nur am letzten Versuchstage wurden beide gleichzeitig ozonisiert, wobei beide dasselbe Verhalten zeigten.

Es wurden folgende Beobachtungen gemacht: Während das Versuchstier anfangs unruhig wurde und zu entkommen suchte, traten bereits nach 10 Minuten (vom Beginn des Einleitens der ozonisierten Luft gerechnet) Vergiftungserscheinungen auf, wobei der Ozongehalt der Luft unter der Glocke erst 0,09 mg O_3 pro Liter erreichte. Die Maus lag zusammengekauert mit geschlossenen Augen, die Zahl der Atembewe-

1) Bach, A., Compt. rend. T. CXXIV. 1897. p. 951. Chemikerztg. 1897. p. 398, 436.

2) Engler, C. und Wild, W., Ueber die sogenannte „Aktivierung" des Sauerstoffs und über Superoxydbildung. (Bericht d. Deutschen chem. Ges. Jahrg. XXX. 1897. p. 1669.)

3) Chodat, R. und Bach, A., Berichte d. Deutschen chem. Ges. Jahrg. XXXV. 1902. p. 1275, 2466, 3943; Jahrg. XXXVI. 1903. p. 600, 606, 1756; Jahrg. XXXVII. 1904. p. 36.

4) Vergl. Engler, C., Histor.-krit. Studien über das Ozon. p. 57 d. Sep.-Abdr.

5) Malys Jahresbericht f. Tierchemie. Bd. XXVI. 1886. p. 396.

gungen wurde herabgesetzt, die Atmung erfolgte krampfhaft, stoßartig. Das Versuchstier reagierte auf äußere Geräusche nicht, beim Herausnehmen aus der Glocke machte es keinen Fluchtversuch und verblieb einige Zeit in derselben Stellung, in welcher es in seinen gewöhnlichen Aufenthaltsort gebracht wurde; dann erst öffnete es nach und nach die Augen und bewegte sich langsam, die dargebotene Nahrung wurde verschmäht. Ueber Nacht erholte sich jedoch die Maus jedesmal vollständig, sie war mindestens ebenso munter wie das Kontrolltier, das dargereichte Futter wurde begierig aufgefressen und nichts deutete auf einen noch vor wenigen Stunden vorhandenen totähnlichen Zustand. Die überstandene Ozonisation hatte auch weiterhin keine nachteiligen Folgen, denn die Versuchstiere befanden sich noch 4 Monate nach Beendigung der Versuche vollkommen wohl.

Versuche mit kaltblütigen Wirbeltieren.

Von kaltblütigen Wirbeltieren wurden bisher nur mit Fröschen Ozonisierungsversuche ausgeführt, und zwar von Berlow, Binz und de Renzi[1]); ihre Versuchsergebnisse stimmen im wesentlichen darin überein, daß die Atmung verlangsamt wurde und die Versuchstiere in einen Zustand der Indolenz versetzt wurden; wurden sie dem Einflusse des Ozons entzogen, so erholten sie sich bald wieder.

Meine Versuche wurden an Laubfröschen ausgeführt. Die Ozonisierung erfolgte durch 16 Tage, an 4 Tagen mit täglich 10 l ozonisierter Luft von 0,3 mg O_3 pro Liter; an 12 Tagen mit einer größeren Ozonmenge, indem ich zur Ozonisierung ozonisierten Sauerstoff mit 2,4 mg O_3 pro Liter benutzte, nachdem ich mich überzeugt habe, daß der Aufenthalt in reinem Sauerstoff ohne Einfluß war. Für die Versuche mit ozonisiertem Sauerstoff wurde ein weithalsiges Glasgefäß von etwa 2 l Inhalt verwendet, es wurde an 10 Tagen 2mal täglich und an 2 Tagen 4mal täglich mit ozonisiertem Sauerstoff gefüllt.

Bei den Versuchen mit ozonisierter Luft wurde gleichzeitig auch eine weiße Maus unter die Glocke gebracht, um unter vollkommen gleichen Versuchsbedingungen den Unterschied in der Ozonwirkung auf Maus und Frosch (Warm- und Kaltblüter) kennen zu lernen; es ergab sich, daß die Maus weit rascher und heftiger auf das Ozon reagierte als der Frosch.

Die wichtigsten Symptome, die während und nach der Ozonisierung am Laubfrosch beobachtet wurden, waren: Herabsetzung der Atemtätigkeit bis zum Stillstand, was mit der von de Renzi beobachteten Apnoë übereinstimmen würde; das Tier saß zusammengekauert meist an der Wand des Gefäßes, reagierte auf äußere Geräusche anfangs nur schwach, später gar nicht; auch auf eine von Zeit zu Zeit hineingebrachte lebende Fliege reagierte es nicht, obzwar sie sich oft in seine unmittelbare Nähe, mitunter sogar auf seinen Kopf in die nächste Nähe des Mundes niederließ.

Nachdem der ozonisierte Sauerstoff durch gewöhnliche Luft ersetzt wurde; erholte sich das Versuchstier alsbald und schnappte wieder nach Fliegen. Ein Töten des Laubfrosches durch Ozon gelang nicht, obzwar an einzelnen Tagen innerhalb 6—8 Stunden bis 19 mg O_3 zur Einwirkung gelangten.

Erwähnenswert wäre noch, daß die vor dem Ozonisieren lebhaft grüne Farbe des Frosches während der Ozonisierung in graugrün bis

1) Vgl. Binz, C., Berl. klin. Wochenschr. Jahrg. 1882 und 1884; Eulenburgs Realencyklopädie der ges. Heilkunde. 2. Aufl. Bd. XV. 1888. Artikel „Ozon".

graubraun überging und erst nach Entziehung des Ozons allmählich die ursprünglich grüne Farbe wieder erhielt.

Auch eine junge Ringelnatter zeigte im wesentlichen ein dem Laubfrosch ähnliches Verhalten, auch hier konnte eine Verlangsamung der Atmung und ein Zustand der Indolenz beobachtet werden.

Versuche mit Fischen.

Ueber die Einwirkung des Ozons auf Fische fand ich in der Literatur keine Angaben vor. Als Versuchstiere dienten drei Goldfische; diese befanden sich in einem 2,3 l fassenden Becherglas, welches mit 1 l Wasser gefüllt war. In das Wasser wurde durch eine bis auf den Boden reichende Glasröhre ozonisierter Sauerstoff mit 2,4 mg O_3 pro Liter geleitet und durch 31 Tage 2mal täglich mit Ozon gesättigt, bis das Becherglas mit ozonisertem Sauerstoff gefüllt war. Die Versuchstiere erschienen nicht im mindesten affiziert, weder ihre Beweglichkeit noch ihre Freßlust wurde beeinträchtigt; auch hatte die Behandlung mit Ozon keine üblen Folgen, denn sie erfreuten sich noch 4 Monate nach Beendung der Versuche des besten Wohlseins.

Versuche mit Insekten.

Ueber die Einwirkung des Ozons auf Insekten fand ich nachträglich eine kurze Notiz von Fröhlich vor, wonach Insekten in 20 bis 30 Minuten getötet werden, „nur der sogenannte Schwabenkäfer ließ sich nicht umbringen“ [1]).

Ich experimentierte hauptsächlich mit einem ausgewachsenen männlichen Hirschkäfer, ferner mit Fliegen und mit Küchenschaben.

Die Versuche mit dem Hirschkäfer dauerten 29 Tage, die Nahrung während dieser Zeit bestand in Zuckerwasser. Er wurde während dieser Zeit an 9 Tagen mit ozonisierter Luft (0,3 mg O_3 pro Liter) und an 5 Tagen mit ozonisiertem Sauerstoff (2,4 mg O_3 pro Liter) behandelt.

Die Ozonisationsdauer mit ozonisierter Luft unter einer Glocke von 6 l Inhalt betrug an 6 Tagen 40 Minuten, an 2 Tagen 1 Stunde und an einem Tage 2 Stunden; hierbei wurden folgende Beobachtungen gemacht:

Nach 20—30 Minuten verfiel der Hirschkäfer in einen schlafähnlichen Zustand, er saß regungslos mit gesenktem Kopf und Oberkiefer, reagierte auf äußere Geräusche, z. B. Klopfen auf die Glocke, höchstens durch eine schwache Bewegung der Fühler bezw. der Kiefertaster; wurde die ozonisierte Luft durch gewöhnliche ersetzt, so hob er alsbald den Kopf mit den Oberkiefern und bewegte sich mit ausgebreiteten Fühlern, das dargereichte Zuckerwasser wurde begierig aufgenommen.

Sodann wurde der Hirschkäfer einer stärkeren Ozonisation mit ozonisiertem Sauerstoff [2]) in einem 2 l fassenden Becherglas ausgesetzt; die Anästhesie war hier eine noch vollkommenere, indem der Käfer selbst auf direktes Berühren nicht reagierte; trotzdem hat er sich, dem Einflusse des Ozons entzogen, bald wieder erholt.

Ein Töten des Hirschkäfers durch Ozon gelang erst, nachdem er 4 Tage hintereinander mit ozonisiertem Sauerstoff behandelt wurde, hierbei verblieb er in dem mit ozonisiertem Sauerstoff gefüllten Becherglas am 1. Tage $3^1/_2$ Stunden, wobei 2,6 mg O_3 auf ihn einwirkten; am 2. Tage vormittags 3 Stunden, die einwirkende Ozonmenge betrug 5,4 mg O_3, nachmittags 2 Stunden mit 2,4 mg O_3; am 3. Tage

1) Fröhlich, O., Ueber das Ozon, dessen Herstellung auf elektrischem Wege und dessen technische Anwendungen. (Elektrotechn. Zeitschr. Jahrg. XII. 1891. p. 340.)

2) Sauerstoff allein war ohne Einfluß.

$2^1/_2$ Stunden mit 5,4 mg O_3 wirksamem Ozon; am 4. Tage 9 Stunden, wobei 14 mg O_3 zur Einwirkung gelangten; der Tod konnte erst am folgenden Tage früh konstatiert werden.

Küchenschaben, mit ozonisiertem Sauerstoff (2,4 mg O_3 pro Liter) behandelt, büßten alsbald ihre Beweglichkeit ein, ihre Bewegungen wurden immer langsamer und träger, bis sie nach einer halben Stunde in eine Art Erstarrungszustand verfielen, auf Geräusche nicht reagierten und später sich auch gegen direkte Berührung passiv verhielten; auch hier war erst eine länger andauernde Ozonisierung notwendig, um sie zu töten.

Aehnliche Beobachtungen wurden auch an Fliegen gemacht. Eine Schmeißfliege, die tagsüber mit ozonisierter Luft (0,3 mg O_3 pro Liter) behandelt wurde, lag abends wie tot auf dem Rücken; am anderen Morgen war sie jedoch wieder munter. Je 3 Stuben- und Schmeißfliegen, die nachmittags 3 Stunden unter einer Glocke weilten, durch welche in dieser Zeit 20 l ozonisierte Luft (0,3 mg O_3 pro Liter) durchgeleitet wurde, flogen anfangs lebhaft umher, nach einer Stunde krochen sie nur träge, meist auf dem Boden herum, nach $1^1/_2$ Stunden saßen sie unbeweglich und reagierten auf ein Klopfen auf die Glockenwand nicht, nach 3 Stunden lagen die Fliegen am Rücken, eine zur Seite und zwei saßen am Boden; am nächsten Tag früh waren zwei Stubenfliegen tot, eine Stuben- und drei Schmeißfliegen jedoch ganz munter.

Diese vorläufigen Versuche ergeben jetzt schon zweierlei: 1) daß die zuerst von Binz an höheren Tieren beobachtete schlafähnliche Wirkung des Ozons auch für niedere Tiere, insbesondere für Insekten Geltung hat; 2) daß das Ozon entgegen älteren Literaturangaben keineswegs ein so gefährlicher Körper ist, denn selbst kleine Tiere vertragen relativ große Ozonmengen, trotz momentaner Störungen, ohne üble Folgen; Warmblüter werden stärker affiziert als Kaltblüter.

Corrigendum.

In der Arbeit von Wilhelm Sigmund p. 500 Zeile 23 von oben ist zu lesen 50 mm Durchmesser statt 35 mm und in derselben Zeile 28 mm Durchmesser statt 16 mm.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 21.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Institut für allgemeine Pathologie der Universität Graz (Vorstand Professor Dr. R. Klemensiewicz).

Untersuchungen über fluoreszierende Wasservibrionen[1]).

Von Dr. **Fr. Fuhrmann.**

Die Untersuchungen beziehen sich auf zwei fluoreszierende Wasservibrionen, Vibrio aquatilis fluorescens α und Vibrio aquatilis fluorescens β. Ersterer wurde aus Murwasser, geschöpft oberhalb der Stadt Radkersburg, isoliert, letzterer aus Zisternenwasser aus Rudolfswert in Krain. Die beiden, nahezu zu gleicher Zeit aus den genannten Wässern herausgezüchteten Vibrionen sind nahe verwandt, unterscheiden sich aber durch einige kulturelle und biologische Merkmale.

Vibrio aquatilis fluorescens α.

Dieser wächst auf der Nährgelatine bei Zimmertemperatur mit einer runden, blattförmigen, scharf konturierten und nur spurweise weißgelb gefärbten Auflagerung, deren mittlerer Teil etwas verdickt und aus mehreren übereinander liegenden Zelllagen gebildet ist. Nach einigen Tagen diffundiert in den Nährboden ein grün fluoreszierender Farbstoff. Die Gelatine wird auch nach Wochen nicht verflüssigt. Die Kolonieen bestehen aus 2—2,5 μ langen, schlanken und leichtgekrümmten Stäbchen, die, im hängenden Tropfen untersucht, eine lebhafte, den Vibrionen eigentümliche Bewegung zeigen. Auch die tinktoriellen Eigenschaften teilt der Vibrio α mit den übrigen Vibrionen, indem er sich in der üblichen Färbedauer mit wässeriger Fuchsinlösung bedeutend intensiver färbt als mit Gentianaviolettlösungen. Nach Gram behandelt, wird er entfärbt.

Das Temperaturoptimum liegt bei 32° C. Wird der Vibrio bei dieser Temperatur auf Nähragar gezüchtet, sind die Stäbchen kürzer und plumper. Davon hergestellte Geißelpräparate lassen an jedem Pol der Zelle 3—5 an der Abgangsstelle verklebte Geißelfäden erkennen.

Auf der Kartoffel wächst er mit einem dünnen, braungelben Belag.

Auf den Eiweißrand einer gekochten Hühnereischeibe überimpft, bildet er eine lichtbraune Auflagerung. Nach ca. 2 Monaten ist das Eiweiß in eine bernsteinartige, braune und durchsichtige Masse verwandelt.

1) Mitteil. d. naturwissenschaftl. Vereins f. Steiermark, Graz. Jahrg. 1904.

In Nährbouillon wächst unser Vibrio gut, bildet eine mächtige Kahmhaut, zeigt aber keine große Neigung zur Fadenbildung, da nur Fäden mit 1—2 Gliedern in geringer Anzahl zu beobachten sind.

In Peptonwasser ist das Wachstum schlecht und es kommt nicht zur Bildung einer Kahmhaut.

Bei der Zucht des Vibrio α im Gärungskölbchen tritt nur Trübung der Traubenzuckerbouillon im offenen Schenkel ein. Eine Gasbildung fehlt.

Der Vibrio gedeiht am besten auf leicht alkalischen Nährsubstraten. Das Alkaleszenzoptimum liegt bei einem 0,5-proz. N-Alkaligehalt.

In Petruschkys Lackmusmolke gezüchtet, bildet er nach 5 Tagen bei 22° C 2 Proz. $^1/_{10}$ N-Säure.

Unser Vibrio ist für das Meerschweinchen in Dosen von 15 mg frischer Agarkultur bei intraperitonealer Applikation pathogen. Es entsteht keine Vibrionenseptikämie, da die vom Herzblut des Versuchstieres angelegten Kulturen steril bleiben. Virulenzsteigerungsversuche ergaben als höchste Virulenz des Vibrio α 5 mg Kultur auf 100 g Meerschweinchenkörper. Weiße Mäuse und Kaninchen erwiesen sich gegen den Vibrio α refraktär.

Vibrio aquatilis fluorescens β.

Dieser Vibrio bildet auf der Nährgelatine kreisrunde, in der Mitte kuppenförmig erhobene, mit einem zarten, gewellten Kragen umsäumte, fast durchsichtige Auflagerungen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Schon nach 24 Stunden gewahrt man im Nährsubstrat Fluoreszenzerscheinungen. Die die Kolonieen zusammensetzenden Stäbchen sind wenig gekrümmt und haben eine Länge von 1,5—2 μ. Sie werden nach Gram behandelt entfärbt und zeigen die gleichen Tinktionseigentümlichkeiten wie die übrigen Vibrionen. Im hängenden Tropfen untersucht, sind sie lebhaft beweglich.

Das Temperaturoptimum liegt um 22° C. Schon bei 32° C findet nur mehr spärliches Wachstum statt. Auf schief erstarrtem Agar gezüchtet, sind die Stäbchen etwas kürzer und bilden einen weißgelben Belag. Davon hergestellte Geißelpräparate zeigen an jedem Ende der Bakterienzelle 2—3 Geißelfäden, deren Länge 5—6 μ mißt.

Auf der Kartoffel und dem gekochten Hühnerei wächst der Vibrio mit den gleichen, für den Vibrio α beschriebenen Eigentümlichkeiten.

Auch dieser Vibrio vermag den Traubenzucker unter Gasbildung nicht zu vergären und trübt die Nährflüssigkeit nur im offenen Schenkel des Gärungskolbens.

In Nährbouillon ist das Wachstum bei Zimmertemperatur gut. Es werden lange Fäden mit über 50 Gliedern gebildet.

Der Vibrio gedeiht am besten bei leicht alkalischer Reaktion des Nährbodens. Als Optimum kann ein Alkaligehalt von 1 Proz. Normal gelten.

In Petruschkys Lackmusmolke durch 5 Tage bei 22° C gezüchtet, bildet er 1 Proz. $^1/_{10}$ N-Alkali.

Der Vibrio ist für das Meerschweinchen pathogen; 10 mg einer jungen Agarkultur auf 100 g Körpergewicht berechnet, töten nach intraperitonealer Einspritzung dasselbe innerhalb von 24 Stunden. Die vom Herzblut des Versuchstieres angelegten Kulturen blieben steril. Der Vibrio β bildet ein Toxin, welches nach dem Abtöten der Bakterien-

zellen mit Chloroform durch Wasser oder Kochsalzlösung extrahiert werden kann. Die abfiltrierten Kulturauszüge töten Meerschweinchen in verhältnismäßig kleinen Dosen. Filtrate von jungen, lebenden Kulturen sind ungiftig, während solche von älteren Bouillonkulturen das Toxin in bedeutenden Mengen enthalten.

Weiße Mäuse sind gegen subkutane Einspritzungen mit dem Vibrio β unempfindlich. (Autoreferat.)

Referate.

Marsson, M., Die Abwasser-Flora und -Fauna einiger Kläranlagen für die Reinigung städtischer Abwässer. (Mitteil. der königl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgung u. Abwässerbeseitigung. 1904. Heft 4. p. 125—163.)

Die Auffindung von Abwasserorganismen oder Saprobien als Leitorganismen für gewisse Verunreinigungen hat eine immer größere Sicherheit in der Beurteilung der Gewässer ermöglicht, und gilt es demnächst, die Saprobien in ein physiologisches System einzureihen. Ehe aber die Aufstellung eines solchen möglich ist, handelt es sich darum, das Studium der Lebensweise der Saprobien zu vertiefen, um schließlich nicht bloß die mikroskopische Wasseranalyse, sondern die erweiterte, auch auf die gröbere Fauna und Flora ausgedehnte biologische Wasseruntersuchung als Wissenschaft auf eigene Füße zu stellen. Die königl. Prüfungsanstalt für Wasseruntersuchung und Abwässerbeseitigung in Berlin setzt diese Studien mit regem Eifer fort, wie dies auch die vorliegende Arbeit beweist, in welcher während des Sommers und Winters 1901/02 zunächst diejenigen Tiere und Pflanzen einer Beobachtung und Kontrolle unterzogen wurden, welche in den Sielwässern der Kläranlagen vor und nach ihrer Reinigung sich einstellten.

A. Die Kläranlage und die Rieselfelder der Charlottenburger Abwässer in Carolinenhöhe bei Gatow.

Die Charlottenburger Kanalwässer, welche auch die Meteorwässer enthalten, sind Abwässer mittlerer Konzentration. Bis zu Carolinenhöhe hinaufgepumpt, fließen sie zuerst in große Absatzbecken, in welchen die suspendierten und ferner namentlich die an der Oberfläche befindlichen Stoffe (durch Eintauchbretter) zurückgehalten werden. Das Abwasser, welches teils in die Kläranlage, teils auf die Rieselfelder fließt, stellt eine bereits in schwacher Fäulnis befindliche Flüssigkeit dar.

In dem in dem Klärbecken sich ansammelnden Schlamm finden sich schon Abwasserorganismen in großer Zahl: Vor allem Euglena viridis mit vereinzelter Euglena pisciformis, Chlamydomonas Reinhardi, Chl. Brauni, zuweilen Chl. reticulata, Chl. Debaryana; in der Schwimmschicht dichtes Mycel von Schimmelpilzen, in dem Fusarium-Sporen häufig waren. In den noch flüssigen Teilen überwogen die Spirillen, besonders Sp. rugula Wint., Sp. undula Ehrb., auch Sp. rufum Perty im Sommer. Polytoma uvella fand sich in allen Jahreszeiten, von Achromatoflagellaten fanden sich die bekannten Bodo-, Monas-, Oikomonas-Arten, vereinzelt Cercomonas clavata Perty. Von Rhizopoden war am häufigsten Hyalodiscus limax, von Ciliaten Paramaecium caudatum, aurelia, putrinum, vereinzelt Vorticella microstoma, Glaucoma scintillans, Am-

phileptus Claparedei, Urostyla Weißei. Colpidium, Chilodon, Bacillariaceen fanden in der Jauche noch nicht ihre Lebensbedingungen, von letzteren verträgt nur Hantzschia amphioxys mit faulenden Stoffen beladenes Abwasser, Nitzschia palea tritt erst auf, wenn das Wasser etwas reiner geworden ist. Das spezifische Gewicht des in dem Becken befindlichen Abwassers betrug filtriert 1,0008, der Gehalt an suspendierten Stoffen bei 105 ° C getrocknet 0,140 g im Liter.

An vielen Stellen der stark nach H_2S riechenden Sedimentärteiche trat eine fast weinrote Färbung auf, die Ueberlaufbretter waren mit einer rosa- bis weinroten schleimigen Schicht bedeckt (Thiopolycoccus); die roten Färbungen waren bedingt durch Schwefelbakterien. Es wurden konstatiert Lamprocystis roseopersicina, aber nur als ganz unregelmäßige Kokkenaggregate — nicht als Wasserblüte —, Chromatium vinosum in Massenbildungen in der Nähe der grünen Algen Chlorella mit Stichococcus, Euglenen, Chlamydomonas Reinhardi. Andere Schwefelbakterien wurden nicht beobachtet, weiße Schwefelpilze, wie die Beggiatoen, vereinzelt Thiothrix tenuis Win. fanden sich nur am Rande in den Klärbecken.

Das von schwereren und leichten Teilen nun meist befreite, aber noch stinkende Wasser floß in die verschiedenen Gräben ab. Der bespülte Rand letzterer war meist mit dunkelgrünen Massen aus Euglenen und Phormidien bedeckt, dazwischen Protococcus-Zustände von Ulothrix subtilis, ferner Paramaecium putrinum, der Nematode Diplogaster rivalis. In weiter außerhalb liegenden Gräben fand sich im Sommer ein mehr hellgrüner Besatz aus Stigeoclonium tenue var. irregulare (Ktg.) Rbh. mit Microthamnion Kuetzingianum Naeg., Scenedesmus obliquus, den Bacillaraceen Nitzschia palea, N. communis, Navicula atomus, Synedra amphicephala Kütz., ferner war Arcella vulgaris nicht selten. In dem Grabenwasser fand sich an faulenden Grashalmen als typischer Leitorganismus für starke Verunreinigungen Carchesium Lachmanni, Epistylis coarctata, in deren Stielen vielfach Zoogloea ramigera; im Schlamm Nematoden, Turbellarien, Larven von Chironomus plumosus, Aelosoma quaternarium.

Erst in den noch entfernter liegenden Gräben, die schon Drainwasser enthielten, trat — im November — Sphaerotilus natans zusammen mit großen Mengen seines Entwickelungsstadiums, der Zoogloea ramigera auf. Auch hier fand sich noch Epistylis coarctata mit Vorticella microstoma, Callidina elegans, Chironomus-Larven; an den Grabenrändern noch Stigeoclonium tenue var. irregulare. Bei diesen Untersuchungen fiel dem Verf. von neuem auf, daß in den am stärksten verunreinigten, d. h. noch faulenden Abwässern, die von Polysaprobien in großer Zahl Polytoma, Carchesium Lachmanni, Vorticella microstoma, die 3 Paramäcien und Euglena viridis enthielten, Colpidium colpoda und Chilodon cucullulus fast gänzlich fehlten. Ersteres tritt erst dann auf, wenn die Lebensbedingungen für Sphaerotilus natans und Leptomitus geschaffen sind und besonders massenhaft, wenn sich diese zu zersetzen beginnen. Chilodon cucullulus und uncinatus finden sich mehr vereinzelt, Cyclidium glaucoma erst dann, wenn Nitzschia palea auftritt.

Bei den Anpassungen dieser und anderer Protozoen an die ver-

schiedenen Abwässer kommen wohl mehrere Faktoren, wie der osmotische Druck (Paramäcien haben geringe osmotische Empfindlichkeit), die Gase (O, CO_2), die Bakterienmengen (Paramaecium caudatum, Vorticella, Monas, Oikomonas, Bodo sind Bakterienfresser) der Abwässer zugleich in Betracht, auch andere Reize, wie Temperatur und Licht sind Faktoren, die noch studiert werden müssen, ehe man die Saprobien in ein physiologisches System einrechnen kann, wenn auch eine Einteilung in Oligo-, Meso-, Polysaprobien bereits möglich ist.

Im Gegensatz zu den Gräben wurde ein Staubecken, das die Wirkung der Sandfiltration auf das Rohwasser zeigen sollte, untersucht. Auf dem Sand fanden sich Chlamydomonas-Arten, dazwischen Oscillatoria formosa Bory, Euglena pisciformes, acus, viridis, sehr zahlreich das Rädertier Hydatina senta, das von den Chlamydomonas-Arten und Euglena lebt. Im Sommer finden sich zahlreiche Mücken zur Eiablage, so von Culex annulatus, die gleichfalls von Chlamydomonas lebten, Chironomiden. In dem sandigen Graben, in dem das aus dem Staubecken abgelassene Wasser teils versickerte, teils weiter abfloß, hatte sich Mitte August ein dichter Belag aus Phormidium uncinatum Gomont (mit Büscheln von Leptothrix Thuretiana [Borzi] Hansg.) gebildet. Im November durchmischten sich die schwarzen Massen mit Oscillatoria formosa, die gleichfalls mit Leptothrix besetzt war — Oscill. formosa weist wohl auf Zufluß hin —, auch fanden sich jetzt dazwischen Beggiatoa alba, Diplogaster rivalis und andere Nematoden, Hantzschia amphioxys. Vom Dezember an wichen die Algen dem Frost und der Kälte. In einer Regenpfütze im Grabensande blieb aber das Wasser bis Ende Januar grün von Chlamydomonas Braunii; es zeigte hier scharfen ozonartigen Geruch und enthielt noch Euglena viridis, Prorodon grisea, Nitzschia palea und Hantzschia amphioxys. Im Sandkörper selbst war noch Phormidium uncinatum mit Ph. autumnale zu konstatieren. Aehnlich wie in dem Staubecken war der Befund in dem stehenden Wasser des am Oxydationskörper I aufgestellten Versuchsbottichs, doch trat zu den Chlamydomonas noch Chlorella vulgaris, ferner Spirillum undula und rugula, Anthophysa vegetans, Paramaecium aurelia, Euglena viridis und acus hinzu. Von Rädertieren fand sich nur Diglena catellina Ehrb. und von Kieselalgen Hantzschia amphioxys. In zwei Fässern, die vor Einrichtung des Staubeckens der Sandfiltration gedient hatten und länger unbenutzt standen, trat im September wieder der Oscillatoria formosa Bory — die typische Abwasser-Oscillatoria — auf, die bei höheren Wärmegraden immer an den Zuflußgräben mit Rohjauche auftritt. Nachdem die beiden Fässer gereinigt waren, wurde das eine mit geklärtem Abwasser, das andere mit nachträglich durch Sand filtriertem Abwasser beschickt, um in den beiden Medien vergleichsweise die Entwickelung der Organismen zu verfolgen. Im ersten Faß hatte sich bald Euglena viridis und auch Eu. pisciformis eingefunden, das Wasser wurde dann grünlich durch Chlorella, Chlamydomonas fand sich spärlich, auch andere Palmellaceen waren häufig, so Scenedesmus caudatus, obliquus, Selenastrum acuminatum und gracile, Actinastrum Hantzschi, Dictyosphaerium pulchellum, Rhaphidium polymorphum, Pediastrum Boryanum und duplex; Hantzschia amphioxys, Nitzschia palea und linearis, Navicula cryptocephala und atomus; von Protozoen:

Trepomonas agilis, Vorticella microstoma und putrina. Im Bodensatz Paramaecium caudatum, Urostyla Weissei, Euplotes charon, Hyalodiscus limax, Paranema trichophorum und Philodina roseola, was beweist, daß sich hier noch Fäulnisprozesse abspielten. Im Oktober und November trat auch Hydatina senta auf. Die Chlamydomonas-Arten scheinen vom Gehalt des Wassers an organischen Substanzen nicht so abhängig wie andere Organismen. Sie fanden sich auch in dem anderen Faß. Vom Oktober bis Ende November zunehmend trat in beiden Fässern Lobomonas Francei auf. In dem zweiten Faß war von Palmellaceen nur Chlorella häufig, wie Euglenen und die ciliaten Saprobien, wie Chilodon cucullulus vereinzelt auftraten. Im Bodensatz: Paramaecium caudatum, Hyalodiscus limax, Philodina roseola, Cryptomonas erosa mit forma reflexa. Eine Nachfiltration ergab sich nach der chemischen Untersuchung als vorteilhaft.

Eine vergleichende biologische Untersuchung wurde Anfang August mit aus dem Sedimentierbecken entnommenen Rohwasser angestellt. Neben rosaroten Zoogloeen fanden sich viel Spirillum serpens, Polytoma uvella, Monaden. Nach 4 Tagen bei Zimmertemperatur waren diese Organismen bis auf wenig Polytoma verschwunden, dagegen fanden sich Spondylomorum quaternarium, Lobomonas Francei, Chlamydomonas Debaryana, Amphileptus Claparedei, Paramaecium aurelia mit Inhalt von Lobomonas Francei, Chlamydomonas Debaryana, Colpidium Colpoda, Glaucoma scintillans. 8 Tage später fanden sich Chlamydomonas Reinhardi, Chlamydomonas Debaryana und — vereinzelt — Sarcina paludosa. Anfang September hatten sich die meisten Chlamydomonaden encystiert und Scenedesmus-Arten waren aufgetreten neben Chilodon cucullulus, Bodo, Hantzschia amphioxys. Ende Oktober überwucherte Scenedesmus obliquus und S. caudatus, häufig war auch Selenastrum acuminatum, dann fand sich Gonium sociale und von neuem Chlamydomonas Reinhardi. Das Wasser war völlig geruchlos. Der Unterschied in der Entwickelung der Organismen im Vergleich zu denen des reineren Faßwassers lag hauptsächlich in dem Auftreten von Spondylomorum und später von Gonium sociale.

Die Abflüsse der südlichen Hälfte der Rieselfelder und die aus dem Oxydationshofe vereinigen sich in einen südlichen Abflußgraben, der in die Havel mündet. In ihm fanden bedeutende Eisenhydroxydabscheidungen statt, die im Sommer und Herbst im Wasserstrome trieben, im Winter an den Grabenrändern festsaßen oder den Boden bedeckten. Die Grundsubstanz der braunen Massen bestand aus Zoogloeen und Spaerotilus natans, nur selten dazwischen Mycel von Fusarium aquaeductuum oder Mucor. Beggiatoa häufig von Januar bis März; nie fand sich Leptomitus. Die Zoogloea ramigera, deren Zusammenhang mit Sphaerotilus angenommen wird, einwandfrei aber noch nicht erwiesen ist, bildet sich schon in verjauchten Abwässern, in denen der Sphaerotilus noch nicht zur Entwickelung kommt, der erst im mehr gereinigten Lauf des Wassers auftritt. Wird bei einem Abwasser die Verunreinigung mit viel fäulnisfähiger Substanz eine stärkere, so verschwindet Sphaerotilus ganz und die Zoogloea wuchert wieder intensiv. Auch in Carolinenhöhe bot im Abflußgraben die Vegetation der Pilze einen schnellen Indikator, ob die Rieselfelder gut oder schlecht funktionierten: Sphaerotilus im Sommer deutete letzteres an.

Auch in der Wucherung der grünen Algen bestand ein Unterschied zwischen Sommer- und Wintervegetation. Im Sommer: Conferva bombycina, Ulothrix subtilis, Stigeoclonium-Palmellen mit Diatomeen; im Winter nur dichte Vaucheria-Watten. Die vielen Chironomus-Larven zwischen ihnen lockten viele Fische, namentlich Plötzen und Gründlinge an, die in dem verpilzten Wasser bei genügender Sauerstoffmenge noch leben können. Diatomeen traten reichlich auf, Protozoen während des Sommers fast nicht, dagegen reichlich im Winter, besonders Colpidium colpoda und Chilodon cucullulus, deren massenhaftes Vorkommen typisch für die Sphaerotilus-Vegetation ist. Seltener war Euplotes charon, noch seltener Euplotes patella, unregelmäßig Paramaecium (mehr caudatum als aurelia bei stärkerer Verunreinigung). Im Februar und März war Colpoda cucullus häufig, seltener Stentor coeruleus, Glaucoma scintillans, Colpoda Steini, Uronema griseolum, Oxytricha pellionella, Vorticella campanula, Aspidisca lynceus und Hyalodiscus guttula, von Carchesium Lachmanni fanden sich nur Stiele, die Zoidien waren in dem reineren Wasser abgestorben. Rotifer vulgaris fehlte nie, von März ab kam Rotifer tardus dazu, Nematoden und die Tubificiden Limnodrilus udekemianus und Tubifex rivulorum, wie Chironomus-Larven und Cyclops lockerten den Schlamm und setzten ihn in lebendes Fleisch um. Im August trat häufig Cryptoglena coerulescens neben Hydatina senta und der Ostracode Cypridopsis vidua zugleich mit Stephanodiscus Hantzschianus nebst var. pusillus auf.

Die Havel selbst zeigte unterhalb des Zuflusses des Abflußgrabens im Januar noch Sphaerotilus-Flöckchen und Beggiatoa-Fäden als abnorme Planktonbestandteile, von Protozoen nicht selten Stentor Roeseli, Coleps hirtus, Strombidium turbo und Trachelius ovum. Im übrigen bestand das Plankton neben sehr viel Asterionella hauptsächlich aus Melosiren, von denen die Arten binderiana, crenulata, curvata, granulata die häufigsten waren, ferner war zahlreich Synura uvella, Tintinnidium fluviatile und Synchaeta pectinata, auch Brachionus pala und angularis, Anuraea aculeata, Polyarthra platyptera, Triarthra longiseta und Nauplien. In dem sehr reichen Sommerplankton fehlten die Protozoen; es fanden sich folgende Planktonformen, die Tag und Nacht für die Reinigung des Havelwassers tätig waren:

Clathrocystis aeruginosa und viridis
Coelosphaerium dubium
Gomphosphaeria lacustris
Chroococcus limneticus
Anabaena macrospora
„ spiroides
„ flosaquae
Oscillatoria limneticus
Lyngbia limnetica
Merismopedium glaucum
Aphanizomenon flosaquae
Dinobryum cylindricum
„ sertularia
Cryptomonas erosa
Mallomonas dubia
Synura uvella

Euglena deses
Trachelomonas volvocina
„ hispida
Colarium vesiculosum
Pharus pleuronectes
Glenodinium cinctum
Scenedesmus opoliensis
„ obliquus
Solenastrum acuminatum
Richteriella botryoides
Actinastrum Hantzschi
Staurogenia apiculata
„ Lauterborni
Kirchneriella lunata
Distyosphaerium pulchellum
Coelastrum sphaericum und
„ microsporum

Pediastrum clathratum
„ duplex
„ Boryanum
Pandorina morum
Eudorina elegans
Volvox aureus
Closterium longissimum
Staurastrum paradoxum
Mougeotia minutissima
Melosira binderiana
„ granulata
„ arenaria
(M. varians fehlt)
Cyclotella chaetoceras
Stephanodiscus Hantzchi
„ astraea
Asterionella gracillima

Diatoma tenue
Fragilaria crotonensis
Fragilaria capucina
„ construens
„ mutabilis
Nitzschia palea, fonticola, sigmoidea
Synedra actinastroides
„ delicatissima
Attheya Zachariasi

Cymatopleura elliptica, solea
Syrirella splendida, biseriata
Arcella vulgaris u. discoides
Difflugia hydrostatica
Actinophrys sol
Diplosiga frequentissima
Salpingoeca amphoridium
Codonella lacustris
Polyarthra platyptera

Anuraea cochlearis u. aculeata
Triarthra longiseta
Brachionus militaris
Bosmina cornuta
Cyclops sp. u. Nauplien
Diaptomus coeruleus
Leptodora hyalina
Hydra grisea

Die Ufersteine waren überzogen mit Gomphonema olivaceum, dazwischen Synedra ulna, Encyonema ventricosum, Ulothrix zonata, Stigeoclonium tenue, auch an Pfählen und Brettern fanden sich massenhaft Kieselalgen. Durch den großen Reichtum an Organismen vermag die breite Havel die ihr selbst und aus der Spree zugeführten Schmutzstoffe leicht zu verdauen.

Des weiteren wurden untersucht die beiden Oxydationskörper (Koksfilter) der Kläranlage und der Rieslerbelag, wobei sich gleichfalls interessante Resultate über die Anpassung der Organismen an verschiedene Verunreinigungsgrade ergaben.

B. Die Kläranlage, die Rieselfelder und die Teiche in Tempelhof bei Berlin.

Die Gemeinde Tempelhof hatte für ihre Abwässer ein biologisches Reinigungsverfahren eingerichtet, an welchem gleichfalls Versuche angestellt wurden. Das Wasser gelangte aus dem Druckrohr zunächst in einen überdachten Faulraum, floß dann auf vier große Filterkörper. Auf viel tiefer gelegenen Rieselfeldern fand dann mit gutem Erfolg eine Nachbehandlung statt, worauf das Wasser in einen noch tiefer gelegenen großen Teich floß. Da in diesem die Versickerung und Verdunstung nicht ausreichte, wurde es bei Ueberschuß in einen außerhalb des Geländes liegenden Teich gepumpt, von dem es weiter in einen dritten und vierten Teich durch natürlichen Ueberlauf gelangte.

Das Wasser im Faulraum beherbergte massenweise Polytoma uvella, Vorticella microstoma, V. Gerda, Paramaecium putinum, Euglena viridis, Chlamydomonas, Oikomonas mutabilis, Spirillen, Spirochäten, Sarcina poludosa vereinzelt, ferner Beggiatoa alba. Im Zimmer entwickelte sich noch daraus Antophysa vegetans, Hantzschia amphioxys, Nitzschia palea, Oscillatoria formosa, Colpidium colpoda, Loxophyllum fasciola, an den Glaswänden Lamprocystis roseopersicina. Beim Austritt in den Faulraum bildete das Rohwasser in der hölzernen Rinne:

1) rosafarbene Massen aus Lamprocystis roseo-persicina; 2) hellgrüne Massen aus Chlorella vulgaris etc.; 3) weißliche, stark stinkende Massen aus Bakterienhaufen, Zooglöen und Pilzhyphen; 4) sammetschwarze Massen aus Oscillatoria formosa (mit Leptothrix Thuretiana), Phormidium autumnale und Ph. foveolarum; 5) rostfarbene Massen aus Eisenhydroxyd. Alle Organismen fanden sich auch in den Lachen und Gräben der nahen Rieselfelder, wo nur die Spirillen, Beggiatoa alba und arachnoidea und Euglena viridis häufig wurden. Zoogloea ramigera trat erst im weiteren Laufe der Gräben auf. Von Protozoen fanden sich Oikomonas mutabilis, Bodo minimus, Hyalodiscus guttula, Paramaecium caudatum und putrinum, Vorticella microstoma, Oxytrichia

pellionella, auch Sarcina, von Kieselalgen Hantzchia amphioxys, Nitzschia palea und Navicula cryptocephala. Neben Oscillatoria formosa und Phormidium uncinatum kamen einzelne Fäden von Oscillatoria antliaria vor, von Larven Mitte September solche von Ptychoptera contaminata L.

Auf den Oxydationskörpern hatten sich ebenso wie auf denen der Kläranlage in Carolinenhöhe die 3 Rhizopoden Euglypha alveolata, Trinema enchelys und vereinzelt Cryptodifflugia oviformis gebildet. Die oberen Koksschichten enthielten dieselben Organismen mit der Rinne, besonders Phormidium-Fäden, unten waren neben den obigen Rhizopoden nur Sarcinen. Im ersten Teich war das Wasser meist grünlich durch Chlorella, je nach Verunreinigung durch ungenügend geklärtes Abwasser auch Euglena viridis und im August Eugl. geniculata Duj. und in Masse Colacium vesiculosum. Im Sommer trat der Chlamydomonas Debaryana und variabilis, im August Lepocinclis texta, gegen den Winter Carteria cordiformis auf. Spondylomorum quaternarium Ehrb. trat auch hier als Mesosaprobion auf. Von anderen grünen Algen fanden sich im Juni und Juli noch Pandorina Morum, Phacus parvula, Ph. caudata, Ph. pleuronectes (letzteres bis in den Winter), Richteriella botryoides Scenedesmus quadricauda und obliquus, Selenastrum acuminatum, Rhaphidium sp. Diatomeen fehlten fast. Im Winter traten Spirillen, Monaden, Anthophysa vegetans, Beggiatoen und Zoogloea ramigera und Protozoen: Vorticella microstoma und putrinum, Paramaecium putrinum, caudatum, vereinzelt aurelia, Urostyle Weissei, Aspidisca lynceus, im Oktober und November auch Didinium nasutum auf, von Rädertierchen Brachionen.

Im zweiten Teich fanden sich Entomostraken häufig, besonders Cyclops strenuus, die genannten Abwasserprotozoen fehlten, vereinzelt fand sich Coleps hirtus, Strombidium sp., Euglena viridis und deses nur im November, Januar und Mai vereinzelt, gleichfalls Trepomonas agilis; mit den Euglenen Hydatina senta massenhaft im Januar, Brachionus rubens im August. Im Sommer Chlorella, Selenastrum bibraianum, Scenedesmus obliquus und caudatus, Rhamphidium polymorphum und Distyosphaerium pulchellum etc. Für Diatomeenentwickelung waren die Lebensbedingungen bessere. Neben Nitzschia palea, Navicula inflata, N. gastrum Euryonema ventricosum. Der dritte Teich war völlig frei von Ammoniak. In ihm kam Chlorella im Sommer noch zu gleicher Entwickelung mit den dort aufgezählten Palmellaceen, Euglena und Leptocinclis texta, Brachionenarten- und zahlreicher vor. An Rotatorien kam Polyarthra platyptera hinzu. Neben Cyclops strenuus fand sich vereinzelt C. serrulosus, viel Chydorus sphaericus, am Ufer Oscillatoria tenuis, dazwischen Larven von Notonecta, im Schlamm von Chironomus motilator. Von Diatomaceen waren häufig Nitzschia palea, Navicula cryptocephala, N. gastrum.

Im vierten Teich schienen im August wieder die Kieselalgen zu fehlen. Das Plankton charakterisierte sich als ein Crustaceenplankton, die Kruster Daphnia pulex, D. Schaefferi, Cyclops strenuus und Nauplien und Colacium vesiculosum besetzt, daneben viele Fliegen, Käfer- und Insektenlarven.

Nachdem durch Anschluß des Tempelhofer Kanalnetzes an die Ber-

liner Kanalisation die Kläranlagen außer Funktion gesetzt worden, wurden die Teiche nochmals untersucht, nachdem 12 Monate kein Abwasser in dieselben geflosseu. Der erste Teich zeigte umfangreiche Bestände von Scirpus lacustris, Lemna polyrhiza, die freie Mitte war mit großen Daphnien durchsetzt, so daß Aquarienhändler und Fischzüchter täglich Beute machten. Unter den Daphnien war Daphnia Schaefferi am meisten vertreten, häufig auch D. magna, seltener D. pulex, die sonst in verkoteten Dorfteichen dominiert, zahlreich Brachionus rubens, während B. amphiceros, pala, angulosus fehlten. Lepadella ovalis war vereinzelt. Von Copepoden fanden sich Cyclops strenuus mit Nauplien. Palmellaceen waren verschwunden, ebenso Euglenaceen; die Kruster nährten sich nur noch von dem massenhaft im Teich vorhandenen Detritus. Im Rest des dritten Teiches waren noch vertreten Brachionus amphiceras, pala, angulosus, rubens (wenig), Polyarthra platyptera war selten, zahlreich Cyclops, Daphnia Schaefferi und magna waren in dem reineren Wasser seltener. Notonecta glauca fand hier reichlich Nahrung. Von Algen fanden sich vereinzelt Oscillatoria tenuis, Trachelomonas volvocina, Lepocinclis texta, Closterium parvulum und Colacium vesiculosum an Cyclops und Polyarthra.

Wie in Carolinenhöhe in dem Abwasser die Reihenfolge der Organismen von dem Sielwasser an bis zu dem durch Sand nachfiltrierten Wasser eine ganz charakteristische war, so waren sehr ähnliche Verhältnisse auch in Tempelhof vom Faulraum bis zu den verschiedenen Teichen zu beobachten. Namentlich im geklärten Abwasser bisher selten beobachtete Lebewesen, wie Spondylomorum quaternarium, Gonium sociale, Trepomonas agilis, Cryptomonas erosa f. etc. kamen an beiden weit voneinander entlegenen Orten gleichmäßig vor. Ganz in derselben Weise bildeten sich die Entwickelungsstadien der Lamprocystis roseopersicina in beiden Rohwässern, wie bald darauf gewisse H_2S bindende Pilze und rote Monasarten. Von Bacillariaceen vertrug stets Hantzschia amphioxys das am meisten unreine Wasser, dann folgte Nitzschia palea. Auch die 3 Rhizopodenarten auf den beiderseitigen Koksfiltern waren dieselben. In den größeren Wasseranlagen der Tempelhofer Teiche kamen im geklärten Wasser nach dem Auftreten der typischen Euglenaceen die Volvocineen und Palmaceen und mit ihnen die Brachionen, ganz besonders Brachionus pala, durch die gewissermaßen eine Defäcierung des Abwasserteiches bewirkt wurde, zu größerer Entfaltung. Die Crustaceen, vor allen die Daphnien, traten später auf und kamen dann zu sehr starker Vermehrung.

Alles in allem ergibt sich, daß in dem aus den Druckrohren strömenden Wasser schon die meisten für durchgreifende Selbstreinigung wichtigen Keime pflanzlicher und tierischer Organismen vorhanden sind, die sich gleich bei Austritt des Rohwassers weiter entwickeln; eine Uebertragung bezw. Impfung von reinigenden Mikroorganismen ist nicht nötig. Dagegen erscheint Einbringung von größeren Würmern (Lumbriculiden) in die für sie von Natur unzugänglichen Filterapparate der Kläranlagen zur Lockerung und Aufnahme des Schlammes wünschenswert. Durch größere Absatzbecken zur Entschlammung wird die Entwickelung der roten Schwefelbakterien gefördert, die den sich bald bildenden Schwefelwasserstoff binden. Die gleichfalls H_2S spaltenden, S-speichernden weißen Beggiatoen treten erst bei stärkerer Strömung auf. Daher werden die Rieselfelder durch Schlammbecken entlastet und wird damit an Fläche gespart. Ferner erwiesen sich auf Grund der

biologischen Forschung bei abfallendem Gelände Stauteiche und Schlängelgraben nützlich, da in ihnen, besonders im Winter, wo die normalen biologischen Faktoren der Reinigung zurücktreten, Bakterien- und Detritusfresser, die sich in schnellfließendem Wasser nicht entwickeln, zur Massenvermehrung kommen. Der Crustaceenreichtum der Klärteiche müßte mehr als bisher zur Fischzucht ausgenutzt werden.

Ludwig (Greiz).

Ludwig, F., Nest und Vorratskammern der Lonalap von Ponape. (Allgem. Zeitschr. f. Entomol. Bd. IX. 1904. No. 11/12. p. 225—227. Mit Abb.)

Friese, H., Ein Bienennest mit Vorratskammern (Lithurgus dentipes Sm.). (Zeitschr. f. wissensch. Insektenbiologie. Bd. I. 1905. Heft 3. p. 117—119.)

Trouessart., E. L., Sur la coexistence de deux formes d'Hypopes dans une même espèce, chez les Accariens du genre Trichotarsus. (Compt. rend. de la Soc. Biol. T. LVI. p. 234—235.) Deuxième note sur les Hypopes du genre Trichotarsus. (l. c. p. 565 bis 368.)

Auf den Karolineninseln Ponape und Truk ist den Eingeborenen nur je eine Bienenart näher bekannt. Die schwarze Trukbiene, Puret genannt, Trigona carbonaria Sm. (nach Friese neu für Ozeanien) von Größe unserer Stubenfliege, baut schwarze Waben, die eine reichliche Honigmenge enthalten. Die Ponapebiene „Lonalap" dagegen — nach H. Frieses neuerer Bestimmung die von Neu-Südwales über die Karolinen nach den Sandwichsinseln verbreitete, auch vom Bismarcksarchipel bekannte Art Lithurgus dentipes Sm. — legt dagegen in den Stämmen von Hibiscus ein sehr merkwürdiges fingerförmiges Nest an, das von allen bisher bekannten Nestern (einzelligen Bauten, Linienbauten, Traubenbauten, Haufenbauten, Wabenbauten) der Apiden abweicht. Auch nach einer anderen Richtung weicht die Lonalap von allen anderen solitär bauenden Bienen ab, indem sie nämlich Reservevorräte aufspeichert. Die Röhren fand ich vollgestopft von teils durch Flüssigkeit verklebtem, teils pulverförmigen Blütenstaub des Hibiscus selbst. Was uns aber hier am meisten interessiert, das ist eine in Unmenge bei der Lonalap parasitierende Milbe, welche ich entdeckte und die von Trouessart Trichotarsus Ludwigi Trouess. benannt wurde und zur Entdeckung eines eigentümlichen Polymorphismus Veranlassung gab. Trouessart fand neben den erwachsenen Tieren, Männchen und Weibchen, eine doppelte Hypopus-Form: Wanderlarven und eine — bei Trichotarsus bisher noch unbekannte — encystierte Hypopialform. Unter etwa 300 Milben fanden sich etwa 50 erwachsene, geschlechtliche Tiere, 50 Hypopialnymphen „in Reisekostüm", 3—4 normale Larven und Nymphen und 200 encystierte Hypopus-Exemplare. Trouessart war es nun von Interesse nachzuforschen, ob die encystierte Hypopus-Form auch bei den europäischen Trichotarsus-Arten vorkäme. Er untersuchte ein Nest der Mörtelbiene Osmia cornuta, das von Milben wimmelte und fand in der Tat bei den Commensalen dieser Biene, dem Trichotarsus osmiae, ebenso wie bei Trichotarsus Ludwigi zweierlei Hypopus-Formen-Ruheform und Wanderform. Die Wanderlarven zeigen noch keinerlei Geschlechtsorgane, dagegen stellen die encystierten Larven ein zweites Nymphenstadium dar, mit bereits entwickelten Geschlechtsorganen und zwar sind dieselben sämtlich weiblich. Es gibt bei Trichotarsus nach allen diesen Ermittelungen in der Kolonie außer der normalen Entwickelung noch zweierlei

Tiere mit folgender Entwickelung: 1) Larve, migratile Hypopus-Nymphe, Nymphe, Männchen oder Weibchen; 2) Larve, weibliche Nymphe, encystierte weibliche Hypopus-Nymphe, Weibchen. Ludwig (Greiz).

Hiltner, L., Gründüngung und Impfung im Walde. (Prakt. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. II. 1905. Heft 3 und Naturw. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft. 1905. Heft 4.)

Verf. hebt hervor, daß für eine erfolgreiche Gründüngung im Walde die künstliche Zuführung von Knöllchenbakterien sich als überaus vorteilhaft, ja vielleicht in der Mehrzahl der Fälle als unbedingt notwendig erweisen dürfte. Dies geht unter anderem aus den 21 Gründüngungs- bezw. Impfungsversuchen im Walde hervor, die im vergangenen Jahr von der königl. bayerischen Agrikulturbotanischen Anstalt in München durchgeführt wurden, soweit die ungünstige Jahreswitterung bei diesen überhaupt ein Wachstum ermöglichte. Ein eingehender Bericht ist in der oben an zweiter Stelle genannten Zeitschrift erschienen. Die Versuche wurden mit perennierender, mit gelber und blauer Lupine, mit Serradella, Wicke und Erbse angestellt, und ihr Verlauf ist teilweise im Wortlaut des vom Versuchsansteller eingesandten Berichtes geschildert. Verf. zieht aus ihnen den Schluß, daß die Impfung trotz der überaus ungünstigen Witterungsverhältnisse des Sommers 1904 im großen und ganzen recht befriedigende Resultate ergeben hat.

Im Zusammenhang mit diesen Versuchen und zur Beachtung für die kommende Bestellungszeit weist Verf. noch darauf hin, daß einerseits auf tadellose Beschaffenheit des Saatguts zu achten ist, und dann eine Gründüngung mit Kali und Phosphorsäure mindestens auf nährstoffarmen Sandböden als unerläßlich erscheint. Diese Düngung muß aber, um einer schädlichen Wirkung der Kalisalze vorzubeugen, so früh wie möglich gegeben werden, auch wenn die Gründüngungssaat erst im Mai oder Juni erfolgen sollte. (Es mag bemerkt sein, daß die durchgehende Verwendung mehrerer Parallelparzellen, ebenso wie ständige gewichtsmäßige Feststellung der auf jeder der Parzellen erzielten Ernte die Beweiskraft ähnlicher Versuche wohl noch beträchtlich vermehren könnte. Auch könnte sich vielleicht die Gleichartigkeit der Wachstumsbedingungen (z. B. bezüglich des Anquellens der Saat) noch vergrößern lassen.) Paul Ehrenberg (Breslau).

Buchner, Eduard und **Meisenheimer Jacob,** Die chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gärung. (Ber. deutsch. chem. Gesellsch. Jahrg. XXXVIII. 1905. p. 620—630.)

Durch wiederholte Versuche wurde bestätigt, daß die Milchsäure beim Zerfall des Zuckers als Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung aufzufassen ist. Unter welchen Umständen im Hefenprozeßsaft Bildung und Zerfall von Milchsäure erfolgt, kann noch nicht mit Bestimmtheit angegeben werden. Während im Sommer 1903 regelmäßig in den Preßsäften ein Verschwinden von Milchsäure zu beobachten war, wurde in den Wintermonaten Neubildung von Milchsäure festgestellt; im Juli und August 1904 wurde selbst zugesetzte Milchsäure vergoren. Alle Versuche, eine weitere Zwischenstufe zwischen Glukose und Milchsäure zu fassen, waren bisher vergeblich. Verff. schließen sich jetzt der Anschauung von A. Wohl und J. U. Nef an, daß Methylglyoxal als das erste Umwandlungsprodukt der Glukose bei der Gärung zu betrachten ist. Den Körper, welcher den Zucker in Milchsäure spaltet, bezeichnen sie von nun an speziell als Zymase (genauer Hefenzymase), wogegen der Milchsäure in Alkohol und Kohlendioxyd spaltende Stoff Laktacidase heißen soll.

Essigsäurebildung wurde auch diesmal in allen untersuchten Fällen beobachet. Verff. vermuten, daß es sich um die Wirkung eines besonderen Enzyms handelt und benennen dasselbe Glukacetase.

Eine Lösung von Glukose in 5-proz. Kalilauge zerfällt bei gewöhnlicher Temperatur im zerstreuten Tageslicht und selbst im Dunkeln nach 11 Monaten so gut wie vollständig unter Bildung beträchtlicher Mengen von Milchsäure. Durch Kochen von Invertzucker mit starker Natronlauge wurde Aethylalkohol, wenn auch nur in geringen Mengen, gebildet. Aus Milchsäure entsteht zwar Aethylalkohol, jedoch enthält die von M. Henriot als Aethylalkohol betrachtete Fraktion daneben beträchtliche Mengen Isopropylakohol. H. Will (München).

Rüffer, Ernst, Ueber Blasengärung. (Allgemeine Brauer- und Hopfenzeitung. Bd. XLV. Jahrg. 1905. No. 71.)

Reinlichkeit im Mälzereibetriebe, Sudhause, Gär- und Lagerkeller, Anwendung tadelloser Materialien (Malz, Hopfen, Hefe) und Vermeidung von Malz mit sehr hohem Eiweißgehalt und längerer hoher Abdarrtemperatur sollen der Blasengärung vorbeugen. Ferner wird vor der Verwendung sehr weichen Brauwassers gewarnt, da letzteres die Entstehung der Blasengärung ebenfalls zu fördern vermag.

Kausch (Charlottenburg).

Hollrung, Jahresbericht über die Neuerungen und Leistungen auf dem Gebiete der Pflanzenkrankheiten. Unter Mitwirkung von Braun-Amani, Fabricius-München, Küster-Halle, Reuter-Helsingfors und Stift-Wien. Sechster Band: Das Jahr 1903. VIII und 374 p. Berlin (P. Parey) 1905. 15 M.

Die Verzögerung in dem sonst immer pünktlichen Erscheinen des von Jahr zu Jahr wertvoller werdenden Jahresberichtes ist durch die Berufung des Mitarbeiters Herrn Dr. Braun-Hohenheim nach Amani hervorgerufen worden. Als eine Verbesserung muß es betrachtet werden, daß in den Literaturverzeichnissen die Zitate numeriert werden, und daß im „Blattweiser" (richtiger wäre wohl „Seitenweiser") bei den Schädlingsnamen, die in den Literaturverzeichnissen vorkommen, der Seitenzahl die Literaturnummer eingeklammert beigefügt ist. Das Auffinden dieser Namen ist dadurch wesentlich erleichtert. Dabei sieht man übrigens auch, welche Unmasse von Literatur bewältigt worden ist — es sind 2207 Nummern. Eine Raumersparnis ist durch kleineren Druck dieser Literatur erzielt worden.

An der bewährten Einteilung ist nur in dem im vorigen Bande neu eingeführten Abschnitte: „Allgemeine Phytopathologie und pathologische Anatomie der Pflanzen" etwas geändert worden. Dieser Abschnitt gliedert sich jetzt, wie folgt:

1) Allgemeines; 2) Einfluß abnormaler Nährstoffzufuhr, Transpirations- und Assimilationsverhältnisse; 3) Einfluß abnormaler Turgorverhältnisse; 4) Einfluß abnormaler Belichtung; 5) Einfluß abnormaler Temperaturverhältnisse; 6) Einfluß von Verwundung; 7) Einfluß mechanischer Zerrung; 8) Einfluß von Giften; 9) Einfluß von Organismen aufeinander; 10) Einwirkung unbekannter Ursachen. Appel (Dahlem).

Kornauth, Karl, Ueber die im Jahre 1904 beobachteten tierischen und pflanzlichen Pflanzenschädlinge. (Zeitschr. für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1905. p. 236.)

Die k. k. landwirtschaftlich-bakteriologische und Pflanzenschutzstation

in Wien hatte im Berichtsjahre 225 tierische Objekte und 220 pflanzliche Objekte zu untersuchen und zu bestimmen und außerdem 502 Anfragen zu beantworten. Die eingelaufenen Objekte werden nach Art und Kronland einzeln aufgezählt. Zahlreiche Beschädigungen von Kulturpflanzen waren durch die abnorme Hitze und Trockenheit des Sommers bedingt. Von besonderem Interesse war das Auftreten von Septoria Lycopersici an Tomatenpflanzen in Nieder- und Oberösterreich, von Phyllosticta Cyclaminis auf Cyclamen persicum in Niederösterreich, das massenhafte Auftreten von Erysiphe graminis auf Gerste und das in verderblichem Maße stattgefundene Auftreten von Puccinia glumarum auf Roggen in Böhmen und Oberösterreich. Von tierischen Schädlingen verdient besonderes Interesse das bisher unbekannte Vorkommen der Raupen von Gortyna ochracea in Hopfen und das Auftreten von Heterodera radicicola in Cyklamenwurzeln, wodurch alle befallenen Pflanzen eingingen. Ziemlich häufig waren die Beschädigungen durch Oscinis frit auf Korn, durch Heterodera Schachtii auf Rüben und durch Raupenfraß (insbesondere Ino ampelophaga und Deilephila livornica) an Wein. Besonderen Schaden verursachte der Fraß der Raupen von Tinea cloacella in Korkstoppeln. Auf Karpfen wurde das Auftreten eines parasitischen Krebses, Lernaeocera cyprinacea L. beobachtet; an Hechten aus dem Wörthersee traten angeblich epidemisch Hautverletzungen auf, doch konnte bei der Untersuchung keine bestimmte Krankheitsursache gefunden werden. Stift (Wien).

Möller, A., Karenzerscheinungen bei der Kiefer. (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. 1904. Heft 12. p. 745—756.)

Unter dem Namen Karenzerscheinungen werden alle Erscheinungen zusammengefaßt, welche bei Pflanzen auftreten, wenn man ihnen unter sonst günstigen Ernährungsverhältnissen einen bestimmten wichtigen Nährstoff oder auch mehrere derselben völlig entzieht oder in nicht genügender Menge darbietet. Die ausgeführten Untersuchungen über die Frage, ob die Kiefern befähigt seien, mit Hilfe entotropher oder ektotropher Mykorhizen Stickstoff der Luft zu assimilieren, führten zu einer weiteren Frage, wie 1- und 2-jährige Kiefern aussehen, wenn ihnen bei sonst genügender und zweckmäßiger Ernährung Stickstoff, Phosphor, Schwefel. Magnesium, Kalium und Calcium entzogen wird und ob sich nicht beständige Karenzerscheinungen zeigen, die für die einzelnen Elemente spezifisch verschieden oder charakteristisch sind.

Die Karenzerscheinung der Kiefer bei Mangel an Stickstoff äußert sich in hellgelbgrünen, kurzen und verhältnismäßig schwachen Nadeln und tritt dieselbe besonders auch dort auf, wo Kiefern in humuslosem Sande gezüchtet werden. Eine Gegenwirkung kann durch Mischung des Sandes mit Humus erzielt werden. Die Verwendung des Chilisalpeters in Kiefernsaat- und Pflanzkämpen wird nicht empfohlen. Eine Entziehung des Schwefels verursachte schwere und schnell zum Tode führende Wirkungen. Phosphormangel bei 1- und 2-jährigen Kiefern hat stets blaurote bezw. violettbraune Verfärbung zur Folge, welche schon vor den Herbstfrösten erkennbar ist. Aehnliche Verfärbungen beruhen nicht immer auf Phosphormangel; wird jedoch vor den ersten Frühjahrsfrösten in größerem Umfange Violettfärbung beobachtet, kann ein Versuch mit Phosphordüngung empfohlen werden. Die auffallendsten Karenzerscheinungen werden durch Magnesiummangel hervorgerufen.

wodurch sich die Sämlinge weit kräftiger entwickeln, als bei Ausschluß des Schwefels und Phosphors. Die Nadelspitzen färben sich in diesem Falle orangegelb, weiter rückwärts geht das Gelb in leuchtendes Rot und allmählich in das normale Grün der Nadelbasis über. Die Farbenschattierungen wechseln von Pflanze zu Pflanze, woraus auf einen verschiedenen Magnesiumgehalt selbst nahe beieinander liegender Stellen zu schließen ist. In Kämpen, wo Gelb- und Rotspitzigkeit vorhanden ist, könnte daher eine Düngung mit Kainit in Frage kommen. Eine deutliche, sicher zu beschreibende Karenzerscheinung bei Kalimangel ist bei den Versuchen nicht hervorgetreten. Autor wünscht schließlich durch vorliegenden Beitrag zur wissenschaftlichen Begründung einer forstlichen Düngerlehre auch dazu Anregung zu bieten, daß bei weiteren Untersuchungen über die Wirkungen des Kalimangels auch die Frage nach etwaigen Wirkungen des Magnesiummangels in das Bereich der Untersuchungen einbezogen würden. Pósch (Grinád).

Eriksson, J., Ueber das vegetative Leben der Getreiderostpilze. II. Puccinia dispersa Eriks. in der heranwachsenden Roggenpflanze. III. Puccinia glumarum (Schm.) Eriks. et Henn. in der heranwachsenden Gerstenpflanze. (Kungl. Svenska Vetenkaps-Akademiens Handlingar. Bandet XXXVIII. No. 3. Stockholm 1904. p. 1—18.)

II. Bekanntlich wird das auf Anchusa arvensis und A. officinalis vorkommende Aecidium in den Entwicklungscyklus von Puccinia dispersa Eriks. gestellt. Das regelmäßige Ausbleiben dieses Aecidiumstandes in Gegenden, wo der Braunrost intensiv allgemein vorkommt, führt zu der Annahme, daß genanntes Aecidiumstadium für den Bestand des Pilzes von keiner wesentlichen Bedeutung sei, folglich auch das Auftreten von Uredo dispersa auf Roggensaatfeldern im Spätherbste durchaus nicht unbedingt aus einer vorhergehenden Aecidieninfektion hergeleitet werden kann. Bei der Annahme anderer Krankheitsquellen werden drei Möglichkeiten berücksichtigt. Erstens könnte man annehmen, daß die auf Winterroggensaat im Oktober und November auftretenden Uredopusteln durch Ansteckung von angrenzenden, spät getriebenen uredotragenden Roggenschößlingen und zwar speziell von dem später wachsenden und reifenden Sommerroggen entstanden wären. Das späte Auftreten der Pusteln in einem Falle, wo man eine Inkubationsdauer von 8—10 Tagen kennt, bezweifelt jedoch die Annahme. Da es bis jetzt nicht gelungen ist, durchaus schlagende Beweise für oder gegen eine Sporidieninfektion zu liefern, muß auch die Möglichkeit dahingestellt bleiben, daß der Pilz die Fähigkeit besäße, durch Sporidienkeime direkt auf die Roggenpflanze überzusiedeln. Die größte Bedeutung besitzt jedoch die dem Studien des Autors zu Grunde liegende dritte Annahme, laut welcher als Urheber der ersten Uredogeneration ein in der Roggenpflanze sich befindender, dem Saatkorn entstammender Krankheitskeim angesehen werden muß, mag nun auch diese Generation schon an der jungen Keimpflanze oder erst nächstes Jahr auftreten. Die Frage, ob es ein überwinterndes Uredostadium gebe, wurde auf Grund eingehender Untersuchungen damit beantwortet, daß eine Uredoüberwinterung des Pilzes, sowohl in Gestalt von Uredosporen, als auch eines uredoerzeugenden Myceliums ausgeschlossen sei, folglich alles das, was von einem seit Monaten in dem Saatpflanzengewebe versteckten Mycelium als Ueberwinterungsstadium dieses Pilzes gesagt wird, nur für eine bisher unbewiesene Mutmaßung gehalten werden muß. Die weiteren

Auseinandersetzungen, die sich auf das intercellulare Mycoplasmaleben des Pilzes, sein Ruhe- und Reifestadium und den Uebergang vom Mycoplasma zum Myceliumzustand beziehen, verdienen ganz besondere Beachtung, da es sich hier nicht mehr um Hypothesen, sondern um gründlich erwiesene, auf dem Gebiete der Getreiderostforschung epochemachende Tatsachen handelt, die wohl nunmehr auf die Gegner der Mycoplasmatheorie überzeugend wirken werden müssen. Es ist somit auch eine eingehendere Würdigung der Untersuchungsresultate gerechtfertigt.

In den meisten Zellen der untersuchten Schnitte war das Mycoplasma zu finden. Die Veränderungen in dem Bau und in der Reaktion des Zellkernes werden bildlich dargestellt. Die anfangs nicht sichtbaren Veränderungen in der Konsistenz des Zellkernes lassen auf ein Ruhestadium des Mycoplasmalebens schließen, der Parasitismus läßt sich erst durch die Hypertrophie des Kernes erkennen. Das Phänomen der Kernhypertrophie wird hier nicht mehr, wie dies bei Puccinia glumarum, in der Weizenpflanze (Ueber das vegetative Leben der Getreideblattpilze I. Puccinia glumarum (Schm.) Eriks. et Henn. in der heranwachsenden Weizenpflanze. Von J. Eriksson u. G. Tischler, K. Sv. Vet.-Ak. Handl. Bd. XXXVII. No. 6. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIII. No. 12. p. 371—372) vermutet wurde, als enzymatische Reizwirkung eines schon vorhandenen Protomycels, sondern als Reizwirkung des Mycoplasmas selbst betrachtet. Die Erscheinung wird mit einer von Toumey bei Dendrophagus globosus in den Wurzelgallbildungen der amerikanischen Obstbäume beobachteten verglichen und eine Uebereinstimmung der Plasmasymbiosis angedeutet. Nach der Hypertrophie des Zellkernes folgt eine fast vollständige Auflösung desselben und ist dieser Vorgang mit dem gleichzeitigen Auftreten von Kernkörperchen — Nucleoli — in dem Mycoplasma selbst verbunden. Mit der Umgestaltung der Zelle in Kern und Plasma tritt das Mycoplasma in das Reifestadium, welches dem ersten Hervorbrechen der Uredopusteln unmittelbar vorausgeht. Nach dem Hervortreten der Plasmanucleoli tritt ein intercellulares Protomycelium auf, welches in seinem jüngsten Stadium in Gestalt kleiner Plasmaklümpchen außerhalb der einzelnen Zellen zu finden ist. Tausende von Schnitten rostkranker Getreideblätter wurden untersucht, um zu ermitteln, wie die erwähnten Klümpchen aus den Zellen heraustreten und ob diesem Vorgang eine totale oder nur partielle Auflösung der Membran vorausgehe. Auf beiden Seiten der Zellmembran vorgekommene, sich gegenseitig anpassende Plasmaanhäufungen ließen auf eine dritte Möglichkeit, auf einen wirklichen Zusammenhang dieser Plasmaportionen schließen und erfolgte auch die Aunahme, daß der Erguß des Plasmakörpers durch die feinen Wandporen ohne irgendwelche Auflösung oder Verletzung der Wand stattfinde, welchem Vorgange jedoch eine Auflösung der Plasmakörper vorausgehen muß. Eine besondere Aufgabe fällt hier den kugelförmigen Nucleoli zu. Von diesen Körpern geht nämlich ein sehr feiner, gefärbter Faden gegen die Stelle der Zellwand aus, wo sich an der Außenseite ein intercellularer Plasmakörper befindet, und macht derselbe den Eindruck eines jungen Uredineen-Haustoriums, welches in den Zellen selbst gebildet wurde. Es fanden sich in gewissen Präparaten nicht selten auch langgezogene, plasmareiche und ebenfalls mit intercellularen Plasmamassen durch Verbindungsfäden korrespondierende Körperchen vor, die wohl für einen

je nach Umständen wechselnden Entwickelungsverlauf im Reifestadium des Mycoplasmas sprechen. Die erwähnten Haustorien werden als Endohaustorien bezeichnet, und fällt auch diesen, wie den von außen eingedrungenen Haustorien die Aufgabe des Transportes von Nährstoffen zu. Spezielle Beobachtungsresultate geben auch die Möglichkeit dessen zu, daß ein Austreten des Plasmas unter Umständen auch ohne vorherige Bildung von Plasmanucleoli stattfinden kann. Nach Austreten des Pilzkörpers in die Intercellularräume beginnt eine kräftige Anregung zum reichlichen und schnellen Wachstum desselben, und wird sodann zuerst das Primär-, sodann das Sekundärstadium des Protomycels gebildet, wodurch der Pilz schon die näher bekannten Entwickelungsformen annimmt.

III. Auch dieser Arbeit liegen die entsprechenden Annahmen und der Zweck der vorhergehenden zu Grunde. In verschiedenen Schnitten von Blättern der Gerstensorte Hordeum vulgare var. cornutum war keine Spur von einem Mycelium des obengenannten Pilzes zu finden, während Mycoplasma überall anzutreffen war. Auch hier konnte das Reifestadium und die weitere Entwickelung desselben deutlich beobachtet werden und stimmen die Untersuchungsresultate mit den vorhergehenden wesentlich überein.

Auf 3 kolorierten Tafeln werden in 22 Figuren die mycoplasmaführenden Zellen der erwähnten Getreidearten und der Uebergang vom Mycoplasma zum Myceliumzustande veranschaulicht, wodurch der Text wesentlich erläutert wird. (Ref. muß das Bestehen mycoplasmaartiger Zustände auch in dem Entwickelungscyklus anderer parasitischer Pilze voraussetzen. So wird z. B. darauf hingewiesen, daß das dem Erbsenrostpilze (Uromyces Pisi Schröt.) zugehörende Aecidium zur Zeit des Auftretens der Krankheit auf Erbsenblätter samt Wirtspflanze (Euphorbia Cyparissias) schon längst verschwunden war, und dennoch der erwähnte Rost epidemisch aufgetreten ist. Dieses und andere Beispiele, hauptsächlich aber die besprochenen Studien, lassen eine baldige irrtumfreie Lösung der hypothesenreichen Generationswechselfrage der Uredineen mit Recht voraussetzen).

Pósch (Grinád).

Eriksson, J., On the vegetative life of some Uredineae. (Annales of Botany. Vol. XIX. No. 73. January 1905. p. 56—59.)

Auch diese Publikation bezieht sich auf das vegetative Leben der Getreiderostpilze und wird auch hier auf Grund eingehender Untersuchungen und erzielter Resultate die Berechtigung der Mycoplasmatheorie festgestellt. Da der Inhalt der Arbeit mit dem der vorangehend referierten hauptsächlich übereinstimmt, verweise ich auf obiges Referat, welches eine ausführliche Darstellung der Untersuchungsresultate liefert, die hier abgekürzt erörtert werden. Pósch (Grinád).

Goury, G. et Guignon, J., Les insectes parasites des Renonculacées. (Feuille des jeunes Naturalistes. Paris. Année XXXIV. 1904. p. 88—91.)

Diese Arbeit ist die erste einer Reihe von Studien über pflanzenparasitäre Insekten. Die Pflanzen sind nach Familien bezeichnet. Die Verff. untersuchen die Arten Aconitum, Anemone und Adonis, und führen einige gallenbildende Parasiten an. Houard (Paris).

Loiselle, A., Les cécidies des environs de Lisieux. IIe liste. (Bull. de la Soc. d'Hortic. et de Bot. du Centre de la Normandie. Lisieux 1903. 8 pp.)

Verf. ergänzt seine erste Liste durch weitere Beschreibung von ungefähr 60 Zoocecidien und Mycocecidien, die alle zu den gewöhnlichsten Arten gehören. Houard (Paris).

Bellevoye, A., Sesia formicaeformis produit-elle des excroissances sur les rameaux des Saules? (Bull. Soc. Ent. France. Paris 1903. p. 89—90.)

Verf. hat auf den Zweigen der Weide eine große Anzahl von Auswüchsen gefunden, die er nicht nach dem Vorbilde von Brischke und Sorhagen der Tätigkeit zahlreicher daselbst lebender Sesia-Raupen zuschreibt. Allerdings leben viele dieser Raupen in dem Markkanal der Zweige und kommen in der Nähe der Wurzeln heraus, ohne Auswüchse zu verursachen; sie können sich sogar von einem solchen Auswuchse, falls sie ihm auf ihrer Wanderung begegnen, nähren. Schließlich finden sich häufig in manchen von den Sesia-Raupen zernagten Auswüchsen keinerlei Spuren eines Durchganges in den Markkanal; demnach müßte ein Sesia-Weibchen ein Ei in diese Auswüchse gelegt haben, und die Raupe wäre erst im zweiten Jahre im Schmetterlingzustande daraus hervorgegangen. Houard (Paris).

Chrétien, P., Note sur la Conchylis santolinana Stgr. (Bull. Soc. Ent. France. Paris 1903. p. 112—113.)

Die Stengel von Santolina rosmarinifolia zeigen oft spindelartige Anschwellungen von 20—40 mm Länge und 3—5 mm Breite, welche durch die Raupe einer Conchylis hervorgebracht werden, welche Staudinger zu C. santolinana rechnet. Verf. zeigt, daß die Gallen tatsächlich durch eine neue Conchylis-Art erzeugt werden, welche er im Jahre 1902 C. austrinana genannt hat.

Die Raupe von C. santolinana ist cecidogen: Beim Auskriechen aus dem auf die Spitze des Stengels gelegten Ei dringt sie in die entstehende Calathide ein, richtet sich im Fruchtboden ein und gelangt danach in den Stengel, in dem sie selten über 5 mm vordringt. Im August entsteht eine leichte Schwellung an der Basis der Calathide in dem angegriffenen Teil des Stengels. Die Raupe erwartet ihre Metamorphose in der Calathide selbst; der Schmetterling kriecht im März oder April des folgenden Jahres aus. Sehr oft finden sich an einem und demselben Santolina-Stengel die Gallen von Conchylis austrinana und von C. santolinana. Houard (Paris).

Müller, Julius, Pediculoides Avenae n. sp., noch eine Milbenkrankheit des Hafers. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1905. p. 23.)

Verf. macht auf eine Milbenart aufmerksam, die auf dem Hafer noch nicht beobachtet wurde und ein Verkümmern desselben bewirkt. Die Pflanze bleibt in ihrer Entwickelung zurück und bringt es zu keiner Aehrenbildung. Die Milbe kann bei einer oberflächlichen Betrachtung sehr leicht mit Pediculoides graminum E. Reut. verwechselt werden, mit der sie viele charakteristische Merkmale gemein hat. Sie unterscheidet sich jedoch, wie Verf. eingehend erörtert, körperlich und in ihrem biologischen Verhalten von derselben, und besitzt auch einen einfacheren Entwickelungsgang, da die aus dem Ei kommenden oktopoden Individuen als die Geschlechtstiere erscheinen, die ihre Reife wahrscheinlich schon nach einer einzigen Häutung erlangen. Die große Anpassungsfähigkeit des Hafers an den Boden, die zum Teil auf seiner starken Bewurzelung beruht, kommt ihm bei Ueberwindung dieser Krankheit zu

statten. Der schädigende Einfluß der Milbe ist auf drei Faktoren zurückzuführen: Die giftig wirkenden miasmatischen Stoffe, die auszehrende und zernagende Wirkung des Parasiten, und die krankhaften Reize, die durch seine Tätigkeit ausgeübt werden. Somit erscheint im Falle eines größeren Umsichgreifens dieser parasitären Krankheit der Haferbau ernstlich bedroht, und es ist nicht zu viel gesagt, daß das Ernteergebnis von Pflanzen, die stark von Pediculoides Avenae befallen sind, gleich Null ist. Stift (Wien).

Ludwig, F., Phosphoreszierende Collembolen. (Prometheus. Bd. VII. 1904. No. 787. p. 103—107.)

Verf. beobachtete 1904 in seinem Garten an Helleborus foetidus eine Blattkrankheit, als deren Urheber er einen Kugelspringschwanz, Sminthurus bicinctus C. Koch, betrachtet. Die sämtlichen Blätter der zahlreichen Helleborus-Pflanzen verschiedensten Ursprungs (aus Vernayaz oberhalb St. Moritz, dem Birstal bei Zürich, Boppard am Rhein, Lörrach in Baden, Ostheim a. d. Rhön, Belriet a. d. Werra, Jena) waren wie mit feinen Nadelstichen versehen, die Pflanzen zeigten dann verminderte Widerstandsfähigkeit gegen Winterfröste und gingen zum Teil ein. In früheren Jahren fand sich der Sminthurus bicinctus nur vereinzelt an Helleborus, 1904 dagegen in Unzahl. Der Fund veranlaßte den Verf., die Verbreitung der Collembolen weiter zu studieren und einige Wochen lang überall um Greiz und an anderen Orten des Vogtlandes, dann in Thüringen in Städten und Dörfern, auf Feldern, in Gärten, wie auf der Höhe der Berge (Inselsberg, Heuberg, Spießberg, Wartburg etc.) alle möglichen Sträucher, Kräuter und Blumen auf weißes Papier abzuklopfen, um die Collembolen zu fangen. Das Ergebnis war, daß Sminthurus bicinctus C. Koch, nach ihm Sminthurus luteus Lubb., S. hortensis Fitch. (= pruinosus Tullb.) und andere Collembolen, wie Entomobrya nivalis L. etc., neben der roten Milbe und Thripsarten die allergemeinsten, verbreitetsten tierischen Bewohner von Blättern und Blüten sind. Treten die Individuen so häufig auf wie bei Helleborus foetidus, so gehen mit dem Vorkommen der Collembolen pathologische Aenderungen der Wirtspflanze Hand in Hand, wie dies noch bei verschiedenen Wiesenpflanzen (Heracleum) etc. beobachtet wurde. Meist finden sich aber an der einzelnen Pflanze nur spärliche Exemplare. Die Quantität schwankte nach Standort, Pflanzenart und Zeit. An einzelnen Stellen fehlten z. B. Sminthuren, an anderen sind sie fast überall vorhanden. Manche Pflanzenblätter, wie z. B. von Brombeeren, Himbeeren und Blüten, z. B. von Genista tinctoria, Chrysanthemum Parthenium, Campanula sp., Digitalis purpurea, Epilobium angustifolium, tira flexuosa etc. waren geradezu als collembolophil zu bezeichnen, enthielten fast immer Sminthurus und Entomobrya, andere nur spärlich oder nie. Oft wollte es dem Verf. scheinen, als wenn Blasenfüße und Springschwänze sich bis zu einem gewissen Grad gegenseitig ausschlössen. Zeitlich ergab sich auch eine verschiedene Quantität an Collembolen nach Monaten; auch scheint es, daß sie nicht alljährlich so häufig sind wie in dem trockenen Sommer 1904. Wie oben erwähnt, wurde früher auf Helleborus foetidus, wo damals eine Thripskrankheit beobachtet wurde, nur vereinzelt Sminthurus bicinctus gefunden, während 1904 Thripsverkrüppelungen und Blasenfüße darauf fast gänzlich fehlten. Die Häufigkeit der Collembolen in Blüten führt den Verf. neben anderen Gründen zu der Vermutung, daß auch das Leuchten der Blumen und Blätter

(vergl. F. Ludwig, Ueber die Phosphoreszenz d. Pilze u. d. Holzes, Göttingen 1874. p. 5 ff.; Molisch, Leuchtende Pflanzen. Jena 1904) durch Collembolen verursacht werde, da bereits für verschiedene verbreitete Arten regelmäßige oder gelegentliche Phosphoreszenz konstatiert worden ist, wie Aphorura fimetaria (L.) Lubb., Aphorura armata Tullb., Neanura muscorum Templeton. Jedenfalls wäre bei den verbreiteteren Collembolen darauf zu achten, ob sie in ähnlicher Weise (wie auch verschiedene Tausendfüßler) phosporeszieren. Ludwig (Greiz).

Loos, K., Lophyrus pini L. im Herbste 1904. (Centralbl. f. d. ges. Forstw. 1905. p. 60—64.)

Außer Feststellungen über die Häufigkeit der Kokons von Lophyrus pini (L.) an einem isolierten, etwa 5 ha großen Waldkomplexe in Böhmen macht L. neue und sehr anziehende Beobachtungen über die Tätigkeit natürlicher Feinde der Buschhornwespe im Kokonzustande bekannt. Vorauszuschicken ist noch, daß sich öfters Massenansammlungen der Gehäuse in tieferen Rindenrissen fanden, wo bis zu 300 Stück an einem Stamme in größeren oder kleineren Klumpen vereinigt waren. Außer dem großen Buntspecht machen sich die Kohlmeisen um die Vertilgung der ruhenden Raupen oder Puppen sehr verdient; nach den Auszählungen wurden beispielsweise innerhalb 7 Wochen auf 1 ccm Bodenfläche durchschnittlich 67 Stück Gehäuse aufgehackt. Während die Tätigkeit der Krähen ziemlich belanglos war, haben die Mäuse (welche Arten? Ref.) nächst den Kohlmeisen wohl den stärksten Anteil an der Vertilgung gestellt, da sich im Durchschnitt auf den Kubikcentimeter nicht weniger als 114 ausgefressene Kokons ergaben. Beide Tierformen teilen sich die Arbeit in der Weise, daß die Meisen hauptsächlich nur die in der Streuschicht teils oberflächlich liegenden, teils ebenso eingebetteten Kokons annehmen, während Mäuse vorzüglich die Massenansammlungen aufsuchen und durch Aufscharren bloßlegen. Deshalb kann man beider Tätigkeit daran unterscheiden, daß die von Meisen geöffneten Kokons zerstreut im Bestande umherliegen, weil jene ihre Beute nicht auf dem Boden, sondern in den Baumkronen öffnen; auch gibt Verf. mehrere Merkmale für das Erkennen nach der Art und Weise des Oeffnens an. Nach seinen Beobachtungen neigt L. zu der Annahme, daß jenes engbegrenzte, aber ziemlich stark befallene Gebiet infolge seiner günstigen Lage von den Schädlingen auch ohne Zutun des Menschen durch deren natürliche Feinde befreit worden wäre.

Jacobi (Tharandt).

Peters, A., Die Kiefernschütte und die Kiefernwickler als Feinde der Waldkultur an der Nordseeküste von NW-Hannover. (Aus der Heimat — für die Heimat. Jahrb. des Ver. f. Naturk. a. d. Unterweser f. 1903 u. 1904. p. 24—27.)

Die mit Kiefern begründeten Aufforstungsgebiete der großen Heiden des Landes Wursten im nordwestlichen Hannover haben unter der „Schütte“ bis zu einem Alter von mehr als 30 Jahren zu leiden. Diese Dauer der Krankheit und die vom Verf. selbst hervorgehobenen Standortsverhältnisse, namentlich von der mechanischen Wirkung der starken Seewinde bedingt, lassen vermuten, daß es sich hier nicht um die rein parasitäre Form der Schütte handelt. Außerdem werden die 8—10-jährigen Kulturen alljährlich im Frühjahr von den Knospenwicklern der Kiefern (Retinia boliana und turionana) in einem Grade befallen, daß noch der größte Teil der von der Schütte genesenen Pflanzen

zu Grunde ging, der kleine verbleibende Rest aber lediglich zu Krüppeln wurde. Man sucht beide Schädlinge durch Ausbrechen der befallenen Knospen zu bekämpfen, was für jede Art zu besonderer Zeit (Anfang bezw. Ende Mai) geschehen muß; Verf. gibt einen besonderen Anhaltspunkt für das Erkennen der noch eine Raupe von R. turionana enthaltenden Knospen: an der Stelle der Eiablage nämlich, wo sich dann das Räupchen einbohrt, entsteht ein geringfügiger Harzausfluß in Form eines dünnen Häutchens, ähnlich dem verhärteten Schleim einer Schneckenspur, während der übrige normale Harzüberzug der Knospe eine mehr kompakte, derbe Schicht darstellt. Verf. gibt selbst zu, daß die Schwierigkeit, befallene Knospen herauszufinden und die gewaltige Ausdehnung des Gebietes den Erfolg der Bekämpfung fraglich machen, hofft aber, daß die vorhandenen Schlupfwespen dem Wicklerfraße schließlich Einhalt tun werden. Jacobi (Tharandt).

Sedlaczek, W., Ueber Schäden durch die kleinen Fichtenblattwespen (Nematus abietinus Chr.). Nebst einer Uebersicht der ethologischen Verhältnisse bei Blattwespen. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jahrg. XXX. 1904. p. 481—492. Mit 1 Abb.)

Von den Lebensbedingungen des Nematus abietinus ausgehend — nicht berücksichtigt wird die Disposition reiner Fichtenbestände für den Befall nach Grundwassersenkung und Rauchvergiftung — bestreitet Verf., daß jene Blattwespe allein im stande sei, einen Bestand, ja auch nur einen einzelnen Baum zum Absterben zu bringen, sowie einen nennenswerten Zuwachsverlust herbeizuführen; finanzieller Nachteil soll sich vielmehr nur dann ergeben, wenn einzelne Bäume durch Zwieselbildung oder Stammdeformation in einer Höhe von 4—6 m minderwertig würden oder durch Schneedruck und Windbruch zu Grunde gehen. Zur Bekämpfung in kleineren Fraßgebieten schlägt er Bespritzen mit einer insektentötenden Flüssigkeit vor — mit welcher, soll erst ausprobiert werden, — beschreibt einige dazu erdachte Vorrichtungen und gibt Kosten an Zeit und Arbeitslöhnen an. Auch Hühnereintrieb wird angeraten, ohne Erfahrungen damit zu nennen, und von Fasanen und Singvögeln Mithilfe erwartet, wiewohl Verf. selbst Zweifel äußert, ob die übelriechenden Afterraupen gefressen werden. Zurechtschneiden der deformierten Gipfel oder späteres Ausasten soll die Wertherabsetzung der Bäume mindern. Jacobi (Tharandt).

Knoche, E., Beiträge zur Generationsfrage der Borkenkäfer. (Forstwiss. Centralbl. Jahrg. XXXI. 1904. p. 324, 371, 536, 606. Mit 4 Abb.)

Nüsslin, O., Beiträge zur Generationsfrage der Borkenkäfer. Eine Erwiderung, insbesondere auf Dr. E. Knoches „Nachschrift“ in dessen Aufsatz obigen Titels im „Forstwissenschaftlichen Centralblatt“ 1904. (Naturw. Zeitschrift f. Land- und Forstwirtsch. Jahrg. III. 1905. p. 83—91.)

In der Knocheschen Arbeit wird zunächst der Einfluß der Temperatur auf die Entwickelung von Hylesinus piniperda und H. fraxini nach Beobachtungen in der Dölauer Haide bei Halle a. d. Saale unter Zuhilfenahme der meteorologischen Aufzeichnungen an letzterem Punkte untersucht. Zunächst stellt Verf. zahlenmäßig fest, daß dem Schwärmen, auch wenn es zu wiederholten Hauptterminen erfolgt, stets ein Steigen der Tagesdurchschnittstemperaturen auf wenig-

stens 9° C vorausgegangen ist. Von dieser Tagestemperatur sind die Käfer so abhängig, daß ein Sinken auf den normalen Frühjahrsstandpunkt, der jener Wärmehöhe doch zu folgen pflegt, sie verhindert, das angefangene Brutgeschäft fortzusetzen, vielmehr sie in die winterliche Lethargie zurückfallen läßt. Die dadurch entstehende unfreiwillige Ruhepause muß um so sicherer eintreten, je früher das Schwärmen vor der sonst üblichen Zeit beginnt, und muß um so länger andauern, je ungünstiger sich die Witterung in der Folgezeit gestaltet. Unterhalb des „Schwärmtemperaturminimums“ findet nicht nur kein Schwärmen mehr statt, sondern in den bereits begonnenen Muttergängen wird auch die Eiablage unterbrochen. Ferner ist die Dauer der Brutentwickelung von der Zeit in Tagen oder Wochen ganz unabhängig, sie wird vielmehr durch die während des Entwickelungsganges erzeugte meteorologische Wärmesumme bedingt. Verf. tadelt deshalb Eichhoff, der nur die Zeit bei der Berechnung der möglichen Generationen in Betracht gezogen und dadurch ein systematisches Verfahren vertreten habe. Er zieht ferner aus seinen Beobachtungen den Schluß, daß eine ungestörte Embryonalentwickelung dieselbe andauernde Temperaturhöhe gebraucht, wie sie vorher gleich bei ihrem Eintritte das Schwärmen der Mutterkäfer auslöst; eine weitere Folgerung ist, daß der Ausflug der Jungkäfer sich nicht in der bisher üblichen Weise nach der Zeit des Ausfluges der ersteren berechnen läßt. Da nämlich — die Gültigkeit der genannten Regel angenommen — die Bruten der vorzeitig schwärmenden Tiere im Durchschnitte nicht früher ausfliegen als die Brutergebnisse der späteren Massenschwärme, so kommen für jene Berechnung die abnormen Frühschwärme gar nicht in Betracht; vielmehr ist der Beginn der erstjährigen Brutentwickelung erst auf den Zeitpunkt anzusetzen, von dem an die nötige Wärmehöhe sich dauernd erhält.

Im zweiten Abschnitte bekämpft Verf. die seither von fast allen Forstentomologen vertretene Lehrmeinung von der Kurzlebigkeit der Borkenkäfer — zunächst wieder der beiden Kiefernbastkäfer — wonach diese bald nach der Fortpflanzung absterben, der Imagofraß in den Markröhren der Triebe (von K. „Primärfraß“ benannt) also nur Jungkäfern zuzuschreiben sei. Seinen Gegenbeweis baut Verf. auf eigene mikroskopische Untersuchungen der Genitalien und Beobachtungen auf, die sehr eingehende Darstellung erfahren; sie gipfeln in folgenden Leitsätzen: „1) Männchen und Weibchen der Kiefernmarkkäfer verlassen nach der Eiablage, erstere früher, letztere später, die Muttergänge und befallen die Triebe nahestehender Bäume, um daselbst ihre Geschlechtsorgane zu regenerieren. Sie sind dann befähigt, noch im selben Jahre eine zweite Brut abzusetzen, haben also ein längeres Leben als ihnen bisher zugeschrieben ist. 2) Es ist durchaus ungerechtfertigt, aus dem Vorkommen später Sommerbruten auf eine zweite Generation zu schließen, da durch bloße Beobachtung im Walde allein nie entschieden werden kann, ob eine zweite Generation oder eine zweite Brut alter Käfer vorliegt.“ Diese Angaben dehnt Verf. nicht nur auf H. fraxini aus, sondern erwartet von der Zukunft ihre Gültigkeit für die meisten, wenn nicht alle Scolytiden. Die anatomischen Untersuchungen über die Merkmale unreifer, reifer und „abgebrunfteter“ werden im dritten Teile benutzt, um nachzuweisen, daß die geschlechtliche Ausreifung der Jungkäfer einer ganzen Reihe von Arten einen bei weitem größeren Zeitraum in Anspruch nimmt, als man nach Eichhoffs Vorgange zu glauben gewohnt war; demnach ist auch der lückenlose Anschluß meh-

rerer Bruten aneinander ausgeschlossen. Der sommerliche Ernährungsfraß der Käfer („Primärfraß" Knoches) kann also einerseits durch das Bedürfnis alter, „abgebrunfteter" Tiere nach Erneuerung ihrer Keimlager, andererseits durch die langsame Ausreifung derselben bei den Jungkäfern veranlaßt sein. — In einer Nachschrift sucht Verf. mehrere von Nüsslin gegen die früher veröffentlichten vorläufigen Ergebnisse K.s erhobene Einwände zu entkräften und ersetzt dessen Bedenken gegen den seit längerem in anderem Sinne verwendeten Ausdruck „Primärfraß" anerkennend, ihn durch „Zwischenfraß".

In seiner „Erwiderung" nimmt Nüsslin vor allem Eichhoff gegen die Darstellung Knoches in Schutz, wonach dieser sozusagen der Urheber der bisherigen allgemeinen Irrtümer über die Biologie der Borkenkäfer sei, weist hingegen nach, daß seine Ansichten von denen Ratzeburgs, Nitsches, Paulys u. a. nicht wesentlich, wohl aber teilweise von denen Altums abweichen. Ferner bekämpft er die Ausdehnung, welche K. seinen, an drei gerade ausnahmsweise Ernährungsverhältnisse zeigenden Hylesinen gewonnenen Schlüssen auf die Mehrzahl der Scolytiden gegeben hatte. N. fordert im Gegenteil die Feststellung, ob es nicht neben den Borkenkäfern mit langsamer, eine doppelte Generation ausschließenden Generation solche gebe, die das Gegenteil aufweisen. Das erstere scheint N. in der sich anschließenden Polemik gegen K.s „Nachschrift" a priori nur für die Hylesininen (nicht —iden!) anzunehmen, deshalb nämlich, weil sich diese morphologisch wie biologisch am meisten an die Gattung Pissodes anschließen, von der die langsame Geschlechtsreife und lange Fortpflanzungsbereitschaft — wesentlich durch McDougall und Nüsslin — festgestellt worden ist.

Jacobi (Tharandt).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Sechsundzwanzigste **Denkschrift**, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1903 und 1904, soweit bis zum 1. Oktober 1904 Material dazu vorgelegen hat. (Arbeiten im Kaiserl. Gesundheitsamte. 164 p. und 5 Tafeln.)

Der Inhalt gliedert sich in: I. Organisation der Reblausbekämpfung. II. Stand der Reblauskrankheit im Reiche. III. Stand der Rebenveredelungsstationen in Preußen und Elsaß-Lothringen. IV. Beobachtungen und Versuche betreffend das biologische Verhalten der Reblaus. V. Stand der Reblauskrankheit im Auslande.

An Stelle des Gesetzes betreffend die Abwehr und Unterdrückung der Reblaus, vom 3. Juli 1883, tritt vom 1. April 1905 ab das Gesetz vom 6. Juli 1904, betreffend die Bekämpfung der Reblaus, das in Anlage 1 und 2 mit der Verordnung über Inkrafttretung vom 24. Juli 1904 abgedruckt ist. Die Neubildung von Weinbaubezirken gibt Anlage 4. Die übrigen Anlagen, deren im ganzen 20 vorhanden sind, geben Auszüge aus den Einzelbezirken der einzelnen Provinzen Preußens und der übrigen deutschen Staaten nebst Berichten über die Ergebnisse der Rebenveredelungsstationen im Berichtsjahr.

Die von den Bundesregierungen bisher aufgewendeten Kosten belaufen sich insgesamt auf rund 13116000 M.

Stand der Reblauskrankheit im Reiche.

1. Preußen. In der Rheinprovinz fanden sich in den alten Herden bis auf einen Herd bei Westum keine Rebläuse mehr und konnten die übrigen Herde aus dem Jahrgang 1901 zum Anbau von Feld- und Gartenfrüchten unter Ausschluß der Rebe freigegeben werden. Neue Herde fanden sich 20 mit 180 verseuchten Reben. Vernichtet wurden 78 902 Rebstöcke auf 10 ha.

In der Provinz Hessen-Nassau fanden sich in den älteren Herden ebenfalls keine Tiere mehr; neue Herde wurden in den Gemarkungen Lorch und Hochheim 5 gefunden. Vernichtet wurden 33 031 Reben auf 3 ha Fläche. In der Provinz Sachsen wurden 43 Reblausherde gefunden. Der Vernichtung fielen 13 098 Reben auf 1 ha Fläche anheim.

2. Bayern. Rebläuse sind noch in den Gemarkungen Hoheim und Sickershausen (35 Stöcke) gefunden worden. Neben den erkrankten Reben wurden 4765 gesunde vernichtet; der Desinfektion wurde 1 ha unterzogen.

3. Königreich Sachsen. In den Weinbau treibenden Orten bestehen 46 Beobachtungskommissionen (3 in der Kreishauptmannschaft Leipzig, 43 in der Kreishauptmannschaft Dresden). Rechts der Elbe wurden im 1. Aufsichtsbezirk 1903 in den 197 Herden des Vorjahres noch 37, in deren Nähe 38, bei den Nachuntersuchungen noch 27 Herde entdeckt. Insgesamt waren 304 Reben auf einer Fläche von 26 a 80 qm verseucht. Rechts der Elbe hatten die Herde von 1902 eine bedeutende Zunahme erfahren (von 90 qm auf 615 qm) und wurde ein neuer, 190 qm großer Herd entdeckt. Im ganzen fanden sich in dem Bezirk 47 Reblausherde und wurden 5293 Rebstöcke vernichtet. In der im 4. Aufsichtsbezirk belegenen Flur Oberau wurden auf dem 1901 entdeckten und vernichteten Reblausherd, der bisher mit Futterpflanzen bestellt war und als Weide diente, 1904 Wurzelausläufer mit lebenden Rebläusen gefunden.

4. Württemberg. Es wurden 19 neue Reblausherde in den Gemarkungen Neckarsulm, Oedheim, Niedernhall und Criesbach mit 205 kranken Reben gefunden. Der Vernichtung anheim fielen 12 225 Reben auf 1 ha.

5. In Baden fand sich die Reblaus 1903 nicht.

6. In Hessen wurde in der Gemarkung Sulzheim 1903 und 1904 je 1 Herd gefunden.

7. Elsaß-Lothringen. 1903 wurden insgesamt 148 neue Reblausherde in 20 Gemarkungen mit 13 425 verseuchten Reben festgestellt. Im ganzen wurden 95 995 Reben auf 9 ha vernichtet, davon entfielen auf Oberelsaß 104 Herde in 11 Gemarkungen auf 3 ha, Unterelsaß 33 Herde in 3 Gemeinden mit 5 ha, Lothringen 11 Herde in 6 Gemarkungen mit 1 ha.

Aus den Versuchen über das biologische Verhalten der Reblaus sei hervorgehoben, daß an im Boden befindlichen abgeschnittenen Rebwurzelstückchen die Reblaus mindestens 1 Jahr lang lebend und vermehrungsfähig bleiben kann. Die Dauer der Erhaltung hängt sehr von der Bodenbeschaffenheit ab; toniger Boden begünstigt die Erhaltung, humoser wirkt ihr entgegen. Was die Desinfektionsmittel anlangt, so ist Kresolwasser weit wirksamer als Petroleum.

Stand der Reblauskrankheit im Auslande.

1. Frankreich. 1903 wurde der freie Verkehr für Reben jeglichen Ursprungs gestattet in den Gemarkungen der Kantone Pau-

Est, Espelette, Hesparren, Tardets, Salies und dem Departement Basses-Pyrénées. Für die Regentschaft Tunis wurden besondere Verordnungen erlassen, um die Einschleppung der Reblaus zu verhüten. Die Weinbergsfläche betrug 1903 14 246 ha, die sämtlich reblausfrei sind.

2. In Spanien ist der Rebstand im Laufe 1904 durch die Reblaus sehr geschädigt worden, namentlich im Norden. Aus der Provinz Huesca werden bedeutende Schädigungen gemeldet; in Navarra ist fast das ganze Weingebiet verseucht. In der Rioja mit 50 000 ha Weinbaufläche sind 25 000 ha verseucht und 12 000 ha zerstört. In der Provinz Saragossa mit 90 000 ha Weinbaugebiet sollen von der Reblaus 35 000—40 000 ha befallen sein. In der Provinz Valladolid schätzt man den fünften bis sechsten Teil der Weinbaufläche zerstört. Die Weinernte sank von 28 370 000 hl im Jahr 1900 auf 18 460 000 hl im Jahr 1903.

Die Wiederherstetlung der Weingärten mit amerikanischen Reben wird allmählich fortgeführt.

3. Schweiz. Im Kanton Zürich hat sich die Sachlage im Jahre 1903 gegen das Vorjahr etwas gebessert. Die Zahl der Reblausherde ist um 53, die der erkrankten Weinstöcke um 382 geringer als im Jahr 1902. Im Kanton Neuenburg wurden 1903 2239 Reblausherde mit zusammen 34 490 verseuchten Reben ermittelt. Ausgerodet und mit Schwefelkohlenstoff behandelt wurde eine Fläche von 11,5 ha. Der Kostenaufwand von 1877 – 1903 belief sich auf 1 753 396 Fr. In einzelnen Gebieten hat die Seuche bedeutende Fortschritte gemacht, doch will man den Kampf bis zum äußersten fortsetzen. Im Kanton Genf betragen die 1903 wiederhergestellten Flächen 72 ha. Die Anwendung des Kulturalverfahrens nimmt ab. In einigen neu verseuchten Weinbergen wurde das Vernichtungsverfahren mit Schwefelkohlenstoff ausgeführt. Im Kanton Waadt wurde der Kampf mit Anwendung des Vernichtungsverfahrens fortgesetzt. 1903 fand sich die Reblaus in 86 Gemeinden, wovon 80 schon früher verseucht waren. Die Wiederherstellung der Weinberge mit amerikanischen Reben schreitet fort. Im Kanton Tessin wurde der Kampf fortgeführt mittels des Vernichtungsverfahrens in dem am meisten Weinbau treibenden Teile des Sopra ceneri und mittels Anpflanzung widerstandsfähiger Reben im übrigen Teil des Kantons. Es fanden sich 21 Reblausherde mit 303 verseuchten Stöcken, die unter Anwendung von Schwefelkohlenstoff vernichtet wurden.

4. Italien. Ende 1902 waren von den 69 Provinzen des Königreichs 39 von der Reblaus verseucht (neu die Provinz Sondrio). Die Zahl der verseuchten Gemeinden betrug Ende 1902 1046. Die 1902 entdeckten Reblausherde beliefen sich auf 1076 mit 230 736 Reben auf ca. 60 ha. Mit Zunahme der Seuche hat die Verteilung von amerikanischen Reben zugenommen; 1903 wurden 7 258 445 Schnitt- und Wurzelreben abgegeben.

5. Oesterreich-Ungarn. In Oesterreich wurde die Reblaus 1903 in 28 politischen Bezirken mit 110 Ortsgemeinden festgestellt; nämlich in

Niederösterreich in den Bezirken: Bruck a. L., Horn, Krems, Korneuburg, Mistelbach, Ober-Hollabrunn, St. Pölten, Tulln, Gänserndorf, Wr. Neustadt;
Mähren: Auspitz, Göding, Nikolsburg, Znaim;
Steiermark: Gonolütz, Feldbach, Luttenberg, Leibnitz, Marburg, Pettau;
Krain: Adelsberg;
Görz und Gradiska: Gradiska, Görz;

Istrien: Mitterburg;
Dalmatien: Benkovac, Knin, Sebenico, Zara.

In Niederösterreich war die Reblaus 1903 etwas weniger als 1902 verbreitet, doch ist der größere Teii der Weingärten bereits derart beschädigt, daß die Schwefelkohlenstoffbehandlung nicht mehr lohnt. Die Gallenlaus, jene Form der Reblaus, die auf den Blättern amerikanischer Reben beutelförmige Warzen oder Gallen erzeugt, trat massenhaft auf verschiedenen amerikanischen Rebvarietäten, selbst auf Rupestris monticola auf.

In Laibach in Tirol trat die Reblaus 1903 auf einer Fläche von 3 ha 60 a auf; in Bosnien wurde sie zum erstenmal bei Gradacac im Kreise Dolnja Enzla aufgefunden.

6) Serbien. 1903 wurden die Weinberge auf dem Landbezirk Assan-bair in der Gemeindemarkung Wranja befallen. Man ist jetzt ernstlich bemüht, die Verluste allmählich einzuschränken durch amerikanische Reben.

7) Bulgarien. Die Landwirtschaftskassen machen sich durch Gewährung langfristiger Darlehen um die Wiederherstellung der Weingärten verdient.

8) Türkei. In Anatolien ist in der Gemeinde Tavchandjil die Hälfte des Rebbestandes zerstört worden, auch sind zwischen Haydar-Pascha und Tavchandjil die meisten Reben der Krankheit, zum Teil auch der Peronospora, zum Opfer gefallen. Auf der europäischen Seite wurden gleichfalls die meisten Reben vernichtet. Zur Ersetzung der zerstörten Reben wurden 1903 358000 Stück amerikanische Schnittreben überlassen.

9) Amerika. In Kalifornien trat die Reblaus in verschiedenen Gegenden stark schädigend auf. Als Hauptvertilgungsmittel wendet man an: Bodenbehandlung mit Schwefelkohlenstoff oder Unterwassersetzen des verseuchten Gebietes; als Schutzmittel: Pflanzen der Rebstöcke in sandigen Boden und Pflanzen widerstandsfähiger Rebsorten. Besonders widerstandsfähig zeigten sich Vitis rotundifolia, V. vulpina (Riparia), V. rupestris, V. Berlandieri, V. candicans und V. Arizonica, durch deren Wurzelreben die Weinbauer sich völlig geschützt erachten.

10) Australien. Größere Ausbrüche der Seuche sind in Viktoria auch 1903 nicht bemerkt worden; man fährt fort, verseuchte Stellen auszuroden und mit amerikanischen Reben neu zu bepflanzen. Das Gleiche galt von Neu-Süd-Wales.

In einem Anhang wird über Auftreten und Bekämpfung von anderen Rebenkrankheiten im Jahre 1903 berichtet, und zwar über Schädigungen durch Witterungsverhältnisse (Frost, naßkalte Witterung), tierische und pflanzliche Schädlinge.

Von tierischen Schädlingen kamen besonders in Betracht: der Heu- oder Sauerwurm, Traubenwurm, Tortrix ambiguella und Grapholitha bortrana, der Springwurmwickler, Tortrix pillesiana, Eulenraupen (Agrotis), Rebenstecher, Rhynchites betuleti, Dickmaulrüßler, Otiorhynchus sulcatus, Weinstockfallkäfer, Adoxus vitis, Julikäfer, Anomala aenea, Weinstockcikade, Typhlocyba vitis, große Rebenschildlaus, Pulvinaria vitis, Blattmilbe, Phytoptus vitis, Spinnmilbe, Tetranychus telarius, Wurzelälchen, Anquillula radicicola, Gallmücke, Clinodiplosis, Wespen; von Vögeln: Drosseln, Stare, Sperlinge; auch Wildschaden durch Hasen und Rehe kam vor.

Von pflanzlichen Rebenschädlingen traten schädigend auf: Peronospora viticola, Oidium Tuckeri, Sphaceloma ampelinum, roter Brenner oder Laubrausch, Dematophora necatrix, Rußtaupilze und Botrytis cinerea.

Von Krankheiten unbekannter Ursache: Chlorose, Grind, Reisigkrankheit, Melanose. Ludwig (Greiz).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines.

Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. d. Etatsjahr 1903 erstattet von dem Direktor Julius Wortmann. Berlin (Parey) 1904. IV, 224 p. 8°. 3,50 M.

Lüstner, Gustav, Bericht über die Tätigkeit der pflanzenpathologischen Versuchsstation. (Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 175—198.)

Nencki, M., Opera omnia. Gesammelte Arbeiten. 2 Bände. Braunschweig 1905. 882 u. 906 p. 1 Bildnis. 15 Taf. u. Fig. (bakteriol. u. and. Arb.) 45 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Blecher, C., Ein Apparat zum Lösen und Filtrieren großer Quantitäten Gelatine, Agar-Agar etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 12/13. p. 415—416. 1 Fig.)

Caullery, M. et **Chappellier, A.**, Un procédé commode pour inclure dans la paraffine des objets microscopiques. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 10. p. 454—455. 2 Fig.)

Fuhrmann, Franz, Ueber einen Universal-Paraffineinbettungsthermostaten. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XXI. 1905. Heft 4. p. 462—467. 2 Fig.)

Peiser, J., Ein Mikroskopierschirm. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XXI. 1905. Heft 4. p. 467—469.)

Raehlmann, E., Das Ultramikroskop, seine Technik und seine Anwendung zur Untersuchung von Blut und Sekretbestandteilen. [Schluß.] (Ztschr. f. ärztl. Fortbildg. Jg. II. 1905. N. 5. p. 149—153. 15 Fig.)

Ries, Julius, Ein erschütterungsloses Stativ für Mikrophotographie. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XXI. 1905. Heft 4. p. 475—478. 5 Fig.)

—, Nadel zur Blutentnahme für Untersuchungszwecke. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XXI. 1905. Heft 4. p. 479—480. 2 Fig.)

Schläpfer, V., Ueber eine Modifikation der Cornetschen Pinzette. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XXI. 1905. Heft 4. p. 458—461.)

Studnička, F. K., Das pankratische Präpariermikroskop. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XXI. 1905. Heft 4. p. 440—444. 1 Fig.)

Tandler, Julius, Ueber einen einfachen Apparat zum Zeichnen und Photographieren mikroskopischer Schnitte. (Ztschr. f. wiss. Mikrosk. u. f. mikrosk. Technik. Bd. XXI. 1905. Heft 4. p. 470—474. 3 Fig.)

Tarozzi, Giulio, Ueber ein leicht in aërober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaëroben gehaltenen Keimen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5. p. 619—624.)

Vereinfachung bei bakteriologischen Züchtungsmethoden. (Das Versuchskornhaus u. s. wiss. Arbeiten. Berlin 1904. p. 199—202.)

Wichmann, Heinrich, Der Keim- und Darrapparat, System Valentin Lapp. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. XXXIII. 1905. N. 15. p. 161—163. [5. Jahresb. d. Ver. d. Brauereibranche. Wien 1905].)

Systematik, Morphologie.

Alessandrini, Giulio, Brevi osservazioni sullo sviluppo e ciclo evolutivo dell' Anchy lostoma (Uncinaria) duodenale (Dub.). (Boll. soc. zool. Ital. Anno XIII. 1904. Ser. II. Vol. V. Fasc. 4/6. p. 147—166.)

Blakeslee, Reproduction sexuelle chez les Mucorinées. (Rev. Mycologique Toulouse. Année XXVII. 1905. N. 1. 2 Taf.)

Cohn, Erich, Endgültige Entgegnung an Dr. Wilh. Jensen auf seine Frage: Ist die Kleinsche Hefe eine besondere Art? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5. p. 521—524.)

Collinge, W. E., Report on injurious insects and other animals observed in the Midland Counties during 1904. Birmingham 1905. 69 p. 8°. 29 Fig. 4 M.

Ferretti, Uberto, I protozoi in rapporto all' infezione: nota preventiva per lo studio di alcuni protozoi patogenie dei loro agenti di trasmissione. (Bull. Soc. Zool. Ital. Anno XIII. Ser. III. Vol. V. Fasc. 7/8. 1904. p. 259—265.)

Gruber, Th., Beitrag zur Identifizierung und Beschreibung von Clostridium Polymyxa Prazmowski. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 12/13. p. 353—359. 3 Taf.)

Guilliermond, A., La morphologie et la cytologie des levures. Suito. III. La sporulation et la conjugaison des levures. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année III. 1905. N. 6. p. 225—235. 14 Fig.)

Heim, L., Beobachtungen an Streptococcus mucosus. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 1. p. 139—143.)

Istvánffi, Gyula, Vizsgálatok a Botrytis sporák életképességéröl. (Matemat. és Természettudományi Ertesitó. Kötet 23. 1905. Triz. 1. p. 1—31. 2 Taf.)

Jordan, E. O. and **Hefferan, M.**, Observations on the bionomics of Anopheles. (Journ. of infect. dis. T. II. 1905. N. 1. p. 56—69.)

Léger, Louis, Sur la présence d'un Trypanoplasma intestinal chez les poissons. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 11. p. 511—513.)

—, Un nouveau type cellulaire de Grégarine à cytoplasme metamérisé. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 8. p. 524—526. 1 Fig.)

v. Linstow, Strongyloides Fülleborni n. sp. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5. p. 532—534. 1 Taf.)

Lüstner, Gustav, Weitere Beobachtungen über die Verbreitung des bekreuzten Traubenwicklers (Grapholitha botrana W. V.). (Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 187.)

—, Ueber einen die Korke der Weinflaschen zerstörenden Schädling. (Bericht d. k. Lehranstalt. f. Wein-, Obst- u. Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 184—186. 1 Fig.)

—, Untersuchungen über Rhacodium cellare. (Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 191.)

Marchal, Paul, Sur une cochenille nouvelle (Amelococcus Alluaudi n. g. et sp.) récoltée par M. Ch. Alluaud. (Ann. de la soc. entomol. de France. Vol. LXXIII. 1904. Trimestre 3. p. 557—561. 2 Fig.)

Mazzotti, L., Sulla presenza di larve di Mosca nell' intorno del corpo umano. (Mem. Accad. Bologna) 1904. 16 p. 4°. 2 M.

Molisch, Hans, Die Leuchtbakterien im Hafen von Triest. Sitzungsber. d. k. Akad. Wiss. Wien 1904. Math.-naturw. Kl. 15 p. 1 Taf. —,50 M.

Pierre, L'éclosion des œufs de Lestes viridis van der Lind (Nevr.) (Ann. de la soc. entomol. de France. Vol. LXXIII. 1905. Trimestre 3. p. 477—484. 1 Taf.)

Rorchetti, Vittorio, Caso settemplice di Dibothriocephalus latus (Bremser). Riv. critica Clinica med. Anno V. 1904. N. 41. p. 654—658.)

van Rossum, A. J., Levensgeschiedenis van Cimbex fagi Zadd. (Tijdschr. Entomol.) 1904. 30 p. 3 Taf. 4 M.

Scheube, B., Ein neues Schistosomum beim Menschen. (Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg. Bd. IX. 1905. N. 4. p. 150—155.)

Silvestri, F., L'Ocnogina betica (Ocnogyna baeticum Ramb.), conosciuto volgarmente allo stato larvale col nomo di Bruco peloso. (Boll. Sc. super. d'Agric. Portici 1905. 12 p. 7 Fig. —.80 M.

Speiser, P., Zur Kenntnis der ektoparasitischen Milben. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5. p. 535—537. 1 Fig.)

Stafford, J., Trematodes from Canadian Vertebrates. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1905. N. 21/22. p. 681—694.)

Stephens, J. W. W., A new hemogregarine in an african toad. (Thompson Yates and Johnston Lab. Rep. T. VI. 1905. p. 115—117.)

The introduction of foreign insects into various countries. (Tropical Agriculturist. Vol. XXIV. 1905. N. 7. p. 444—445.)

Vincent, H., Sur la non-identité du bacille fusiforme et du Spirillum sputigenum. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 11. p. 499—501.)

Widakowich, Victor, Ueber Nematoden an der Hypophysis cerebri von Felis domestica. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 4. p. 447—450. 8 Fig.)

Wie groß ist die Zahl der Mikroorganismen auf dem Getreide? (Das Versuchskornhaus u. s. wiss. Arb. Berlin 1904. p. 202—211. 3 Fig.)

Wize, C., Die durch Pilze hervorgerufenen Krankheiten des Rübenrüsselkäfers (Cleonus punctiventris Germ.), mit besonderer Berücksichtigung neuer Arten. (Krakau Akad.) 1905. 15 p. 1 Taf. u. 11 Fig. 8°. 2 M.

Ziemann, Hans, Beitrag zur Trypanosomenfrage. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 4. p. 429—447.)

Zschokke, F., Dipylidium caninum (L.) als Schmarotzer des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5. p. 534.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

Adeney, W. E., Chemical changes attending the aërobic bacterial fermentation of simple organic substances. P. 1. Urea asparagine albumose and Rochelle salt. (Proc. of the R. Irish Acad. Vol. XXV. Sect. B. 1905. N. 1/2. p. 6 - 23. 2 Taf.)

Blakeslee, A. F., Sexual reproduction in the Mucorineae. (Proc. of the American Acad. of Arts a. Sc. Vol. XL. 1904. p. 205—319. 4 Taf.)

Brasil, Louis, Recherches sur la reproduction des grégarines monocystidées. (Arch. de Zool. expér. et gén. Année XXXIII. Sér. 4. T. III. Fasc. 1. p. 18—38.)

Fermi, Claudio, Weitere Untersuchungen über Anaërobiose. 2. Mitt. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 4. p. 369—380. 13 Fig.)

Heim, L., Die Widerstandsfähigkeit verschiedener Bakterienarten gegen Trocknung und die Aufbewahrung bakterienhaltigen Materials insbesondere beim Seuchendienst und für gerichtlich-medizinische Zwecke. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 1. p. 123—138.)

Klebahn, H., Kulturversuche mit Rostpilzen. 12. Bericht (1903 und 1904). (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 2. p. 65—108. 1 Taf. u. 4 Fig.)

van Laer, Henri, Sur quelques phénomènes de coagulation produits par les borax (Agglutination de la levure). (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 11. p. 333—337.)

Löhnis, F., Ueber die Zersetzung des Kalkstickstoffs. [Schluß.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XXXVI. 1905. N. 12/13. p. 389—400.)

Lüstner, Gustav, Zur Biologie der Peronospora viticola de By. (Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 187—188.)

—, Untersuchungen über die Sclerotien der Monilia fructigena. (Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 188—190. 2 Fig.)

Malenković, Basilius, Das Keimfreimachen der Gerste und dessen Bedeutung für die Bierbrauerei. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. XXXIII. 1905. N. 16. d. Ver. d. Brauereibranche 1905. p. 171—173. [5. Jahresb.].)

Nechitch, A., Sur les ferments de deux levains de l'Inde, le Mucor Praini et le Dematium Chodati. Action des sels sur la fermentation alcoolique. Genève 1904. 44 p. 8°. 1 Taf. u. Fig. 2,50 M.

Schander, R., Bericht über die Tätigkeit der Hefereinzuchtstation. (Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 118—133.)

Sigmund, Wilhelm, Die physiologischen Wirkungen des Ozons. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 12/13. p. 400—475.)

Swellengrebel, N. H., Ueber Plasmolyse und Turgorregulation der Preßhefe. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1905. N. 12/13. p. 374—388. 9 Fig.)

Tullo, T. W., Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Zuckerlösungen auf die Tötungstemperatur bei verschiedenen Hefenarten. [Schluß.] (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 14. p. 197—200. 9 Fig.)

Will, H., Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 11. p. 326—333.)

Windisch, W. und **Schönewald, K.**, Die Ursache des Wachstums der Gerste. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. XXII. 1905. N. 14. p. 200—201.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur belebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Bischoff, Wie erhalten wir ein einwandfreies Trinkwasser? (Gesundheit i. Wort u. Bild. Jg. II. 1905. N. 3. p. 126—138. 6 Fig.)

Hagemann, C., Zur Coli-Frage bei der Beurteilung der Wasserverunreinigung. (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Folge 3. Bd. XXIX. 1905. Heft 2. p. 424—433.)

Laser, Hugo, Zur Verhütung der Uebertragung von Infektionskrankheiten durch Trinkbecher in den Schulen. (Centralbl. f. allg. Gesundheitspfl. Jg. XXIV. 1905. Heft 3/4. p. 90—93.)

Ogier, Jules et **Bonjean, Ed.**, Stérilisation des eaux, destinées à l'alimentation publique. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. légale. Sér. 4. T. III. 1905. p. 302—338.)

Fleisch.

Heine, Paul, Leitfaden der Trichinenschau. Hannover (Schaper) 1905. IV, 47 p. 8°. 1,50 M.
—, Hilfsbuch für Fleischbeschauer. Hannover (Schaper) 1905. IV, 108 p. 8°. 2,75 M.
Pusch, Hans, Ueber gehäufte Erkrankungen nach Genuß von verdorbener Wurst. (Gesundheit. Jg. XXX. 1905. N. 5. p. 130—135.)
von Raumer, Konservensalz und Wurstbindemittel. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahr.- u. Genußmittel. Bd. IX. 1905. Heft 7. p. 405—411.)

Milch, Molkerei.

Harrison, F. C., A comparative study of sixty-six varieties of gas producing bacteria found in milk. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 12/13. p. 359—374. 1 Taf.)
Jensen, Orla, Biologische Studien über den Käsereifungsprozeß unter besonderer Berücksichtigung der flüchtigen Fettsäuren. (Molkerei-Ztg. Jg. XV. 1905. N. 14. p. 157—159.)
Klein, E., Ueber die Verbreitung des Bacillus enteritidis Gaertner in der Kuhmilch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 4. p. 392—393.)
Peter, A., Technisch-bakteriologische Versuche in der Emmentalerkäserei. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. 1905. N. 11. p. 321—325.)
Seligmann, E., Ueber den Einfluß einiger Aldehyde, besonders des Formalins, auf die Oxydationsfermente der Milch und des Gummi arabicum. Mit einem Anhang über die Haltbarkeit der Formalinmilch. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 1. p. 97—122.)
Sommerfeld, Paul, Ueber Formalinmilch und das Verhalten von Formalin gegenüber einigen Bakterienarten. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. L. 1905. Heft 1. p. 153 —164.)

Wein, Weinbereitung.

Windisch, Karl, Bericht über die Tätigkeit der oenochemischen Versuchsstation. (Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gemüsebau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 134—174.)

Bier, Brauerei.

Jahresbericht des Vereins Oesterr. Versuchstation und Akademie für Brauindustrie in Wien XVIII, Michaelerstrasse 25. 1904. Wien 1905. 29 p. 8°.
Bach, Karl, Amerikanische und deutsche Maischmethoden. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 15. p. 163—167. (Der Amerikan. Bierbrauer].)

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Engels, Einige Versuche mit einem neuen Apparat zur Wohnungsdesinfektion für stationären und transportablen Gebrauch. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVIII. 1905. N. 7. p. 197 —207. 4 Fig.)
Huhs, E., Die desinfektorische Wirkung des Formalins auf tuberkelbacillenhaltigen Lungenauswurf (Versuche mit dem Roepkeschen Apparat zur Wohnungs-Desinfektion). (Ztschr. f. Medizinalbeamte. Jg. XVIII. 1905. N. 7. p. 208—211.)
Trillat, A., Sur les propriétés antiseptiques de certaines fumées et sur leur utilisation. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 11. p. 509—511.)
—, Sur les propriétés antiseptiques de certaines fumées et sur leur utilisation. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 12. p. 797—799.)
Wesenberg, G., Metakalin, ein festes Kresolseifenpräparat. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 5. p. 612—618.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Baltet, Charles, Enemies of the apple. (Journ. of the horticult. Soc. Vol. XXIX. 1904. P. 1/3. p. 135—138.)
Bidgood, John, Disease of the leaves of Calanthes. (Journ. of the R. horticult. Soc. Vol. XXIX. 1904. P. 1/3. p. 124—127.)
Carruthers, J. B., Disease of the Cacao Tree. (Tropical Agriculturist. Vol. XXIV. 1905. N. 7. p. 449—451.)
Cooke, M. C., Apple and pear scab. (Journ. of the R. horticult. Soc. Vol. XXIX. 1904. P. 1/3. p. 91—92.)
Delacroix, Georges, La rouille blanche du tabac et la nielle ou maladie de la mosaique (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 10. p. 678—680.)

Gescher, Cl., Zur Reblausfrage. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. XXIII. 1903. N. 12. p. 107.)

Lindner, Paul, Auf welche Weise kann man sich beim Ein- oder Verkauf von Gerste oder Malz vergewissern, ob man Getreideschädlinge (Kornkäfer u. s. w.) mitgekauft bezw. verkauft hat? (Das Versuchskornhaus u. s. wiss. Arb. Berlin 1904. p. 197—198. 1 Taf.)

Lüstner, Gustav, Untersuchungen über den roten Brenner der Rebblätter. (Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 190—191.)

McKenney, R. E. B., The wilt disease of tobacco and its control. (U. S. Depart. of agric. Bureau of plant industry. Bull. 1905. N. 51. p. 1—14. 1 Fig.)

Massée, Geo., Diseases of the potato. (Journ. of the R. horticult. Soc. Vol. XXIX. 1904. P. 1/3. p. 139—145.)

Salmon, Ernest S., On the present aspect of the epidemic of the American gooseberry-mildew in Europe. (Journ. of the R. horticult. Soc. Vol. XXIX. 1904. P. 1/3. p. 102—110. 3 Fig.)

Smith, E. F., Bacteria in relation to Plant diseases. Washington 1905. 300 p. 21 Taf. u. 146 Fig. 4°.

Speschnew, N. N., Pilzparasiten des Theestrauches. Tiflis 1904. 82 p. 3 Taf. 4°. [Russisch.] 5 M.

Wahl, Bruno, Rüsselkäfer als Schädlinge der Kohlpflanzen. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 33. 3 p.)

—, Der Kornkäfer oder der schwarze Kornwurm. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 42.)

—, Die Rübenmüdigkeit und ihr Erreger, das Rübenälchen (Heterodera Schachtii A. S.) (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 45.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Die Maßnahmen der österreichischen Verwaltung zur Abwehr der Reblaus. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 13. p. 123—125. Ztschr. f. d. österr. Verwaltungs-Archiv 1905. Heft 3.)

Die Bekämpfung der Getreideschädlinge. (Das Versuchskornhaus u. s. wiss. Arbeiten. Berlin 1904. p. 184—189.)

Klements fahrbare Hopfen- und Obstbaumspritze. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXXI. 1905. N. 11. p. 87—88.)

Köck, G., Chemische und mechanische Mittel bei Bekämpfung landwirtschaftlicher Schädlinge. (Oesterr. landw. Wchnbl. Jg. XXX. 1904. N. 47. 4 p.)

Kornauth, Karl, Ueber die Bekämpfung tierischer landwirtschaftlicher Schädlinge mit Hilfe von Mikroorganismen. Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich 1904. 23 p. 8°.

Lounsbury, C. P., Tests of substances for tick destruction. (Agric. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXVI. 1905. N. 3. p. 387—395.)

Lüstner, Bekanntmachungen betr. Ergebnisse der Versuche zur Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms mittels des „Horstyls“ und des „Bergerschen Mittels“. (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. d. Regierungsbez. Wiesbaden. Jg. LXXXVII. 1905. N. 9. p. 79—80.)

Lüstner, Gustav, Zur Bekämpfung des Springwurmwicklers (Tortrix pilleriana H.). (Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 197.)

—, Bekämpfungsversuche gegen den Heu- und Sauerwurm (Tortrix ambiguella Hüb.). (Bericht d. k. Lehranstalt f. Wein-, Obst- u. Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. f. 1903. Berlin 1904. p. 192—196.)

Mally, C. W., The destruction of locusts. (Agric. Journ. of the Cape of Good Hope. Vol. XXVI. 1905. N. 3. p. 406—420. 4 Fig.)

Potato Scab (Oospora scabies). (Journ. of the Board of Agric. Vol. XI. 1905. N. 12. p. 734—736. Fig.)

Schmid, Bekämpfung der Reblaus. (Wchnbl. d. landw. Ver. im Großherzogt. Baden. 1905. N. 9. p. 116.)

Schmid, Edmund, Nochmals die Bekämpfung der Peronospora in Steiermark. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 13. p. 125—126.)

Schüle, Bekämpfung von Obstbaumfeinden im Winter. (Landw. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. Jg. XXXIII. 1905. N. 9. p. 158—159.)

Sorauer, Die Entwickelung und die Ziele des Pflanzenschutzes. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XV. 1905. Heft 2. p. 122—126.)

Staatliche Vorkehrungen zur Bekämpfung der Reblaus und Wiederherstellung der zerstörten Weinpflanzungen. (Allg. Wein-Ztg. Jg. XXII. 1905. N. 11. p. 104—105.)

Stockfleth, Georg, Zur Ausrottung der Schachtelhalme. (Illustr. Landw. Ztg. Jg. XXV. 1905. N. 10. p. 99—100.)

Volkart, A., Die Bekämpfung der Fritfliege. (Schweizerische landw. Ztschr. Jg. XXXIII. 1905. Heft 10. p. 245—247. 4 Fig.)

Vorschriften zur Bekämpfung tierischer Schädlinge, insbesondere des schwarzen Kornkäfers. (Das Versuchskornhaus u. s. wiss. Arb. Berlin 1904. p. 190—196. 1 Fig.)

Inhalt.

Originalreferate aus bakteriol. u. gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Referate.

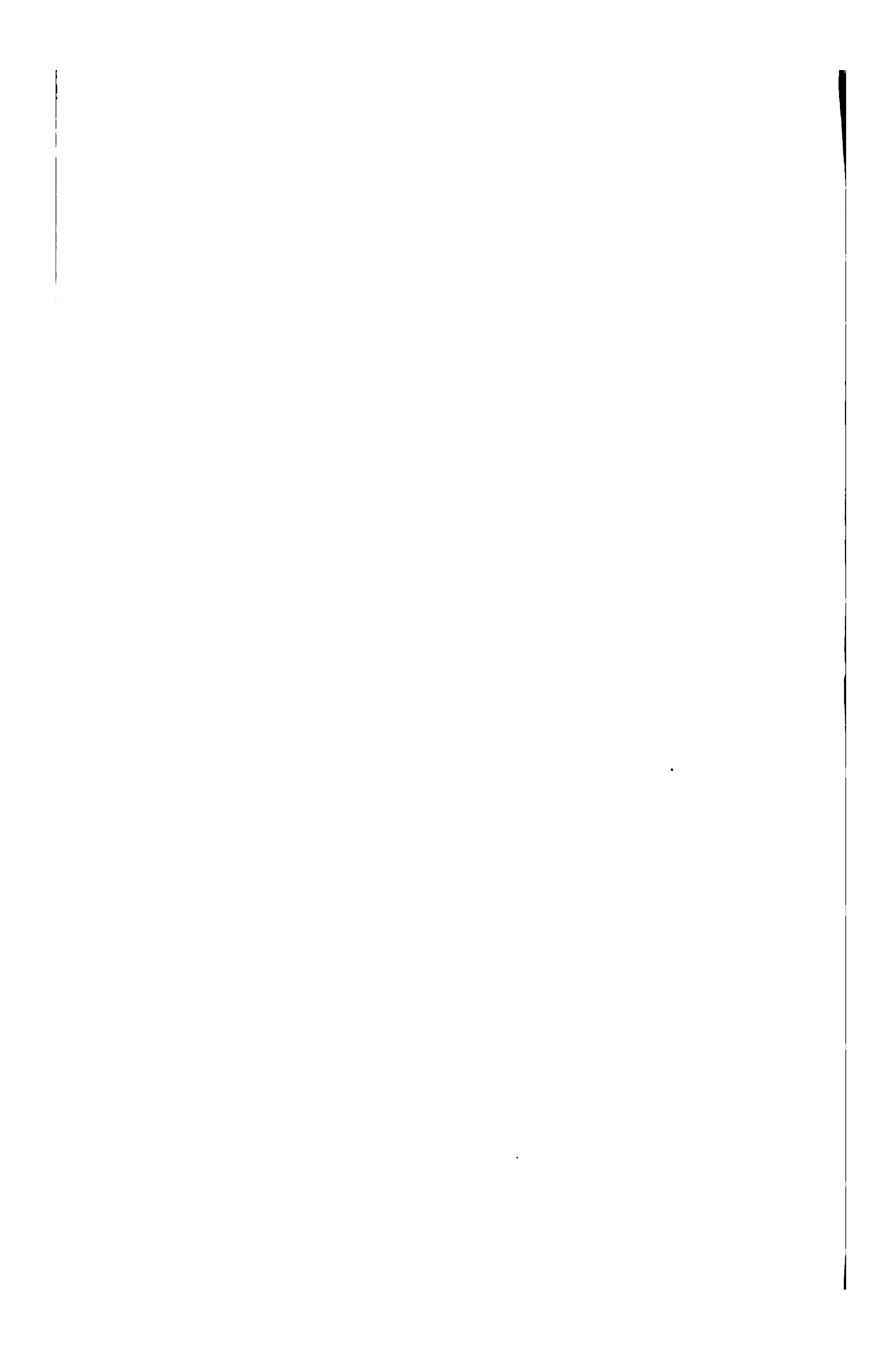
Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

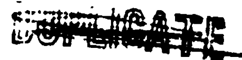
Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

VOLUME 14 Yr. 1905

Stubbed for No(s). 22,23

For Further Information, please inquire of the Reference Librarian





Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 24.

Zur Erzielung größerer Vollständigkeit in den Referaten werden tüchtige Referenten in den verschiedenen Ländern gesucht. Referatangebote werden an Prof. Uhlworm, Berlin, Schaperstr. 2 I erbeten. Honorar für den Druckbogen 55 M., für „zusammenfassende Uebersichten" 70 Mk. Die Red. d. Centr.-Bl. f. Bakt.

Referate.

Grießmayer, Ueber einige neuerdings in der Hefe nachgewiesene Fermente. (Allgemeine Brauer- und Hopfenzeitung. Jahrg. XLV. 1905. No. 70.)

Verf. berichtet über die Versuche Shigas, betreffend die Feststellung der Nuklease und der Argimase in der Hefe.

Kausch (Charlottenburg).

Guilliermond, A., Recherches sur la germination des spores chez quelques levures. (Compt. rend. de l'Acad. des Sc. 5 Décembre 1904.)

Verf. gelangt zu den folgenden Resultaten:

Die Sporen bei Schizosaccharomyces Mellacei fusionieren nicht, wie von Lepeschkin angegeben wurde.

Bei Saccharomycodes Ludwigii (Sacch. Ludwigii) findet ein Verschmelzen der Zellkerne statt, wenn die Sporen fusionieren.

Bei Hefe Johannisberg II keimen die Sporen teils jede für sich allein, teils nach vorausgegangenem Verschmelzen. Ungefähr die Hälfte der Sporen fusionieren zwei und zwei, wenn sie keimen. Oft wird der erste Keimungssproß gebildet, noch ehe die Fusion stattgefunden hat.

Bei Willia Saturnus (Sacch. Saturnus) keimen die allermeisten Sporen jede für sich und nur ein wenig mehr als ein Viertel von ihnen fusionieren.

Verf. ist der Meinung, daß Ref. nicht die große Analogie zwischen der Keimung bei dieser Art und bei Johannisberg II bemerkt habe. Dies ist nicht richtig. Ref. hat nur keine Veranlassung, diese Beobachtung in seiner Abhandlung hervorzuheben, gefunden, weil dieselbe ganz überflüssig ist. Alle bisher auf Sporenkeimung untersuchten Saccharomyceten, mit Ausnahme von Sacch. Ludwigii und einer zu derselben Gattung gehörenden Art, welche einen Keimschlauch bilden, keimen ja in derselben Weise, und zwar mittels Sproßbildung, und bei mehreren Arten ist eine Fusion der Sporen vor und während der Keimung beobachtet. Schon im Jahre 1891 (Compt. rend. du Lab. Carlsberg), also lange vor Guilliermond, hat Hansen Beschreibungen und Abbildungen von diesem Verhalten bei Sacch. cerevisiae (Sacch. cerevisiae I) und Sacch. Ludwigii gegeben. Später hat er (ibid. 1902) auch eine Fusion der Sporen bei Johannisberg II beschrieben und abgebildet. Uebrigens ist es eine Erscheinung, welche häufig beobachtet wird, und zwar bei den verschiedensten Arten, und die Mitteilung und Abbildung des Ref. von der Sporen-

fusion bei Willia Saturnus war nur ein neues, den früheren aber ganz analoges Beispiel. Klöcker (Kopenhagen).

Claussen, Niels Hjelte, Verfahren zur Herstellung von englischen Bieren, wie z. B. Ale, Stout und Porter, unter Anwendung von Kulturen einer neuen Gruppe von Sproßpilzen (Brettanomyces). (Wochenschrift f. Brauerei. Jahrg. XXII. No. 13.)

Die Gärverfahren der Biere mittels Hefereinkulturen, die seit Hansens Entdeckungen allgemein in der Biererzeugung Anwendung gefunden haben, führten bisher beim Brauen englischer Biere niemals zum Erfolg. Man war vielfach geneigt, den Grund in dem Umstande zu suchen, daß für die Nachgärung der englischen Biere eine sogenannte sekundäre Hefe notwendig sei; eine Annahme, die mannigfachen Widerspruch gefunden hat. Die Erfindung des Verf. beruht nun auf der Erkenntnis, daß das die englischen Biere kennzeichnende, feine und eigentümliche Aroma sowie ihr ganzer, eigenartiger Charakter in erster Reihe nicht der angewendeten Hefe (Saccharomyces) oder den benutzten Rohstoffen zuzuschreiben ist, sondern einer besonderen Gruppe von Mikroorganismen, die in die Gattung „Torula" einzureihen sind. Sie konnten aus englischen Bieren isoliert werden, bilden keine Endosporen und erzeugen auf künstlichen Nährböden die typischen Riechstoffe der englischen Biere. Ferner bilden sie reichlich Säuren; die entwickelte Kohlensäure wird von der Flüssigkeit ziemlich fest zurückgehalten und bildet bei kräftigem Schütteln einen voluminösen und dauerhaften Schaum. Das Temperaturoptimum liegt bei ungefähr 30° C.

Das Verfahren zur Herstellung englischer Biere zieht nun die Nutzanwendung von diesen Eigenschaften. Nach geeigneter Reinzüchtung der Brettanomyces-Kulturen werden diese dem Biere in jedwedem angemessenen Stadium der Lagerung oder Gärung zugesetzt, und zwar in Mengen von etwa 75 ccm einer aufgeschüttelten Würzekultur pro Hektoliter Bier. Am besten wird die Kultur erst nach der Hauptgärung zugesetzt. Nach der Klärung des Bieres und Ueberfüllung in Flaschen ist eine längere Aufbewahrung bei 15—25° C erforderlich, damit der in genügender Menge im Biere noch schwebende Brettanomyces das gewünschte Aroma und den nötigen Kohlensäuregehalt hervorbringt.

Seligmann (Berlin).

Brand, J., Beitrag zur Frage: Bier und Metalle. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. XXVIII. No. 15.)

Zink, das in Form der verzinkten Spundbüchsen technisch Verwendung findet, ist hygienisch hierzu unbrauchbar; zwar bleibt das Bier meist klar, doch löst es nicht unbeträchtliche Mengen Zink, bekommt Metallgeschmack und fauligen Geruch, der von Schwefelwasserstoff herstammt. H_2S entsteht wahrscheinlich dadurch, daß der naszierende Wasserstoff die in geringer Menge vorhandene schwefelige Säure reduziert.

Eisen wird auch von Bier gelöst; doch spielt der Kohlensäuregehalt des Bieres keine nennenswerte Rolle, im Gegensatz zu der bisherigen Annahme. Es müssen vielmehr die im Bier vorhandenen organischen Säuren und sauren Salze die große Empfindlichkeit des Bieres gegen blankes Eisen verschulden. Dagegen zeigt ein neues Präparat, Strzodas „Neutraleisen", sehr wertvolle Eigenschaften, da von ihm nur äußerst wenig in Lösung geht. Vergleichende Versuche zeigten, daß auf 1 l

Bier von Neutraleisen I 0,002 g, von gewöhnlichem Eisen 0,0996 g in Lösung gingen, also die 50-fache Menge gewöhnlichen Eisens.

Seligmann (Berlin).

Boullanger, E. et **Massol, L.**, I. Etudes sur les microbes nitrificateurs. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XVII. 1903. p. 492—515.) II. Etudes sur les microbes nitrificateurs. (Ann. de l'Inst. Past. T. XVIII. 1904. p. 181—196.) III. Sur l'action des sels ammoniacaux sur la nitrification du nitrite de soude par le ferment nitrique. (C. R. Ac. d. Sc. 6 mars 1905. p. 687—689.)

I. In ihrem ersten Artikel geben die Verff. einige Hinweisungen bezüglich der Isolierung und Kulturmethoden der nitrifizierenden Mikroorganismen bezw. der Vorbereitung der Kieselsäuregelatine. Wir wollen uns hier auf diese Details nicht einlassen und geben hier das Résumé ihrer physiologischen Untersuchungen:

1) Die Nitritbakterien werden getötet, wenn sie während 5 Minuten der Wirkung einer Temperatur von 45° unterworfen sind; bei den Nitratbakterien kommt dieselbe Wirkung bei einer Temperatur von 55° zu stande.

2) Die optimale Temperatur für die Entwickelung beider Bakterienarten liegt bei 37°.

3) Die Nitrifikation wird beschleunigt, wenn die nitrifizierenden Bakterien auf Schlacken in kleinen Fäßchen, die von Zeit zu Zeit in Bewegung gesetzt werden, kultiviert werden.

4) Die Produktion der salpetrigen Säure wird zum Stillstehen gebracht, wenn die Nitritbakterien in einer Flüssigkeit, die 30—50 g Ammoniaksulfat auf 1 l enthält, kultiviert werden.

5) Die Nitrifizierung wird verlangsamt, wenn die Nitritbakterien 8—10 g Magnesiumnitrit auf 1 l Flüssigkeit produziert haben; bei 13—15 g wird der Prozeß zum Stillstehen gebracht.

6) Das Vorhandensein von Kalium- oder Natriumnitrit in den Medien, die mit den Nitritbakterien geimpft werden, stört die Vermehrung der Mikroorganismen erheblich, die Dauer der Nitrifizierung wird dadurch verlängert. Calcium und Magnesiumnitrit haben eine ähnliche, aber schwächere Wirkung.

7) Das Vorhandensein von Kalium- oder Natriumnitrat in den Medien, die mit den Nitritbakterien geimpft werden, stört auch in schwachen Quantitäten (1—5 g auf 1 l) die Entwickelung des Bakteriums. Calcium- und Magnesiumnitrat stören nur in großen Quantitäten (ungefähr 1 Proz.)

8) Die Verwandlung von Nitriten in Nitrate geht um so langsamer vor sich, je stärker die Konzentration des Nitrits ist. Bei einer Proportion von 20 g auf 1 l Flüssigkeit kommt keine Nitrifikation mehr zu stande.

9) Natriumnitrat hemmt die Entwickelung der Nitratbakterien bei einer Proportion von 25 g auf 1 l Flüssigkeit.

10) Kalium-, Natrium- und Magnesiumnitrat hemmen nicht die Entwickelung der Nitratbakterien, wenn sie sich in der Flüssigkeit in einer Proportion niedriger als 20—25 g auf 1 l befinden. Calciumnitrat verlangsamt den Prozeß bei einer Proportion von 12 g auf 1 l.

II. Im zweiten Artikel fahren die Verff. fort, die Wirkung von verschiedenen Salzen auf die Nitrifizierung zu untersuchen, und kommen zu folgenden Resultaten:

1) Schwefelsaurer Ammoniak wird bei Gegenwart von verschiedenen, gewöhnlichen kohlensauren Salzen in die entsprechenden Nitrite verwandelt.

2) Verschiedene ammoniakalische Salze, auch diejenigen von vielen organischen Säuren und von solchen Säuren, die für andere Mikroben antiseptische Eigenschaften darstellen, werden nitrifiziert; einige in stärkeren, andere in schwächeren Dosen; dazu, daß die Nitrifikation zu stande kommt, ist es nicht nötig, daß die organischen Säuren zuerst von den Mikroben zerlegt werden. Nur salzsaures Hydroxylamin wird auch in schwachen Dosen von den Nitritbakterien nicht angegriffen.

3) In einer Proportion von 0,5—1 g auf 1 l Flüssigkeit werden fast alle Nitrite durch die Nitratbakterien oxydiert. Die Base, mit welcher die Säure gebunden ist, spielt dabei keine wesentliche Rolle; nur die Nitrite von Alkalien und alkalischen Erden scheinen besonders bei stärkeren Dosen eine günstigere Wirkung zu haben.

4) Hinsichtlich das Ganges der Prozesse sind aus den Experimenten folgende Schlüsse zu ziehen. Bei der Umwandlung von ammonikalischen Salzen in Nitrite bemerken wir zuerst eine Inkubationsperiode, die 6 Tage dauert, im Laufe dieser Periode scheint das Ferment gar nicht zu arbeiten; dann erscheint plötzlich die salpetrige Säure und die Oxydierung wird in regelmäßiger Weise fortgesetzt, bis die letzten Spuren von Ammoniak verschwinden; es werden dabei täglich 90 mg Nitrit auf 1 l Flüssigkeit gebildet.

Bei der Oxydierung von salpetriger Säure zu Salpetersäure erscheint die letztere nach 48 Stunden; dann geht die Oxydierung während der ersten 5 oder 6 Tage langsam vor sich, es werden täglich 70 mg Natriumnitrat auf 1 l Flüssigkeit gebildet; in den 3 folgenden Tagen wird der Prozeß beschleunigt und als Mittelzahl kann 90 mg pro Tag und Liter angegeben werden; zuletzt geht der Prozeß so schnell vor sich, daß sich fast eine 3-fache Quantität im Vergleich zum Anfang des Prozesses bildet, nämlich 175 mg. Die Oxydierung ist vollständig und nach 12 Tagen sind keine Spuren von salpetriger Säure zu finden.

5) Durch eine Serie von verschiedenen Versuchen, darunter auch solchen, wo die Entwickelung der Mikroorganismen durch Kultur auf Schlacken und Inbewegungsetzen beschleunigt wird, gelang es den Verff., in die Erläuterung der Frage über die Symbiose der beiden uns hier interessierenden Mikroorganismen etwas mehr Licht zu bringen. Sie kommen nämlich zum Schluß, daß Ammoniak stark hemmend auf die Vermehrung der Nitratbakterien wirkt, solange die letzteren sich noch nicht zu entwickeln angefangen haben, auf die oxydierende Funktion der schon entwickelten Mikroben scheint Ammoniak keine solche hemmende Wirkung ausüben zu können. Dadurch lassen sich die gegensätzlichen Resultate, die man bei der Nitrifizierung im Laboratorium und in der Natur bemerkt, erklären. Im Laboratorium impft man mit geringen Mengen eine ammoniakalische Flüssigkeit, die Vermehrung der Nitratbakterien geht schlecht vor sich und daher haben wir keine Symbiose. In der freien Natur dagegen haben wir reiche Quellen von solchen Mikroorganismen; die Medien, die nitrifiziert werden, enthalten gewöhnlich Ammoniak in solchen Mengen, daß dieser keine hemmende Wirkung auf die Entwickelung der Nitratbakterien ausüben kann; nur in einigen Fällen in Abflußgewässern wird der maximale Ammoniakgehalt (ungefähr 200 mg auf 1 l) überstiegen; der Boden, in dem die Nitrifizierung zu stande kommt, enthält gewöhnlich verhältnismäßig wenig Ammoniak. Es ist daher leicht erklärlich, daß wir in der freien Natur meist mit symbiotischen Erscheinungen, d. h. mit gleichzeitiger Erzeugung von salpetriger und Salpetersäure zu tun haben.

Die Verff. versprechen, in einer weiteren Studie noch die Symbiose der beiden Mikroorganismen zu erläutern.

III. In dem Bericht an die Académie des Sciences bringen die Verff. einen experimentellen Beweis der von Löhnis ausgesprochenen Meinung (aber von ihm experimentel nicht bewiesenen), daß die ammoniakalischen Salze keine besondere Wirkung auf die Nitratbakterien ausüben und daß nur freier Ammoniak oder kohlensaurer Ammoniak (das das Ammoniak in Freiheit setzt), die Entwickelung dieser Bakterien hemmen.

Die Verff. stellen im Bericht folgende Sätze auf: 1) Die Menge 1 auf 1000 von kohlensaurem Natrium ist für die Nitratfermente nicht notwendig, sie kann bis 0,2 g auf 1000 in Winogradskys und Omelianskys Nährmedium sinken. 2) Enthält das Nährmedium nicht mehr als 0,25 g Natriumkarbonat auf 1 l, so ist die Dauer der Verwandlung des Nitrits durch das Ferment von der Anwesenheit oder Abwesenheit von schwefelsaurem Ammoniak unabhängig. 3) Die schädliche Wirkung, die von Winogradsky und Omeliansky im gewöhnlichen Nährmedium beobachtet wurde, kommt vom Ammoniak, das durch das Natriumkarbonat, wenn dieses in einer Proportion von 1 auf 1000 genommen wird, in Freiheit gesetzt wird, das ammoniakalische Salz an und für sich hemmt die Nitrifizierung nicht. G. Seliber (Paris).

Bernard, N., La germination des Orchidées. (Compt. rend. de l'Ac. des Sci. Paris. T. CXXXVII. 1903. p. 483—485.)

Der Keimprozeß von Cattleya und Loelia dauert stets lange: Nach 14 Tagen bringen die Keime kleine, grüne Kügelchen hervor, die nach Verlauf von 4 oder 5 Monaten nur eine Länge von 5 mm erreichen. Diese Pflänzchen nehmen die Form eines Kreisels an, dessen Spitze sich stets von einem fadenförmigen, endophytischen Pilze durchbohrt zeigt.

Verf. beweist, daß das Durchdringen des Pilzes für die das Keimen der Körner im allgemeinen herbeiführenden Bedingungen eine notwendige Ergänzung ist und für das Keimen dieser genügt.

Die aseptischen Pflanzbeete der Körner, die auf 28° gehalten wurden, haben zwar die Kügelchen geliefert, nicht aber den Keimprozeß vor sich gehen lassen. Dieser hat nur stattfinden können, wenn die künstliche Infektion der Pflanzbeete mit einer Reinkultur des oben erwähnten Hyphomyceten hervorgerufen wurde.

Man kann also sagen, daß die künstliche Züchtung der Orchideenpflänzchen gelungen ist. C. Houard (Paris).

Mazé, P. et **Pacottet, P.,** Recherches sur les ferments de maladies de vins. (Annales de l'institut Pasteur. T. XVIII. 1904. p. 245—263. Mit einer Tafel.)

Verff. isolierten einige Mikroorganismen von am Umschlagen und Bitterkeit kranken Weinen; ihre Untersuchungen führen sie zu folgenden Resultaten:

In kranken Weinen, jungen sowie alten, befindet sich eine gewisse Anzahl von Mikrobenarten, die fast immer zusammen anzutreffen sind.

Die umgeschlagenen Weine enthalten manchmal fast alle von den Verff. untersuchten Arten; das Bitterkeitsferment ist immer vom Fettferment begleitet. Das Zusammentreffen der Mikroorganismen beruht auf ihren physiologischen Eigenschaften, die fast identisch sind; sie zer-

stören in gleicher Weise den Zucker, und die Produkte der Gärung bilden sich in fast gleichen Proportionen.

Sie sind im stande, sich in gleichen Medien zu entwickeln, und da sie gegen Säuren widerstandsfähiger als die Hefe sind, so vermehren sie sich in verschiedenen Weinen, wenn in den letzteren sich nur Zucker und stickstoffhaltige Stoffe befinden.

In den reinen Kulturen gelang es den Verff. weder die objektiven Charaktere der Bitterkeit zu erkennen, noch die Zerstörung des Weinsteinrahms und die Bildung von Propionsäure zu beobachten.

Das wird damit wahrscheinlich in Zusammenhang stehen, daß dabei mit großen Quantitäten von Zucker operiert wurde und daß nur Reinkulturen in Gebrauch kamen, vielleicht ist dazu das Zusammentreffen von einigen Mikroorganismen notwendig.

Zu den verbreitetsten Fermenten gehört das Fettferment; es ist am leichtesten zu isolieren, und da es noch von Niemanden kultiviert wurde, so glauben die Verff., daß die Fermente, die sie aus alten, an Umschlagen oder Bitterkeit kranken Weinen isolierten, sich von den bisher beschriebenen unterscheiden.

Weine, die an Zucker und Stickstoff arm sind, können als widerstandsfähig gegen die zitierten Krankheitsfermente angesehen werden. aber wenn diese beiden Stoffe in mehr oder wenig großen Quantitäten vorhanden sind, so kann schon kein anderes im Wein enthaltenes Element in genügender Weise ihre Entwickelung verhindern.

G. Seliber (Paris).

Bolle, Johann, Ueber die im Jahre 1904 in Görz beobachteten Pflanzenkrankheiten. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswesen in Oesterreich. 1905. p. 262.)

Infolge der ungemein lang andauernden Sommerdürre fehlten pilzliche Pflanzenfeinde (Peronospora und Oidium) fast vollständig; das sporadische Auftreten war ohne Bedeutung, hauptsächlich dadurch, daß die Reben mit den bekannten Vorbeugungs- und Bekämpfungsmitteln behandelt worden sind. Von den tierischen Feinden der Rebe wurden die Milbe Phytoptus vitis L., der Schwamm- oder Großkopfspinner Ocneria dispar L. (erfolgreich bekämpft mit Tabakextraktlösungen) und der kleine Frostspanner Cheimatobia brumata L. beobachtet. Auf Obstbäumen sind folgende Krankheiten und Schädlinge aufgetreten: Eine Mehltauart, hervorgerufen durch den Pilz Sphaerotheca Castagnei Lév. auf jungen Trieben der Apfelbäume, der gerunzelte Obstbaumsplintkäfer, Scolytus rugulosus Ratz., auf Kirsch- und Pfirsichbäumen, der früher hervorgehobene Schwammspinner auf Kirschenpflanzungen, der goldgrüne Apfelstecher, Rynchites auratus L., auf Birn- und Kirschbäumen, die Räupchen des Apfelwicklers, Carpocapsa pomonella L., an Aepfel und Birnen (bewährt hat sich hier das Bepritzen der Bäume ca. 8 Tage nach dem Verblühen mit einer Brühe, bestehend aus 40 g Schweinfurtergrün, 1 kg Kalk und 100 l Wasser) die Raupen des Pflaumenwicklers, Grapholitha funebrana Tr. auf Pflaumen und Zwetschken, und schließlich die Birnblattmücke, Cecidomyia piri Bché., auf Birnbäumen. Die vorgeschriebene Untersuchung der Maulbeereinsendungen, welche aus Italien in die Görzer Provinz eingeführt wurden, auf das Vorhandensein der Schildlaus. Diaspis pentagona, führten in allen Fällen (bei der Untersuchung von 33660 Pflanzen, einschließlich 10000 Akazien-Sämlingen) zu einem

negativen Resultat. Ausgedehnte Kohlfelder wurden Ende Juli durch die Raupen des großen Kohlweißlings, Pieris brassicae L., wie durch die Raupen der Kohleule, Mamestra brassicae L., befallen. Anfangs November waren in den geschwollenen Strünken von stark leidend aussehenden Blumenkohlpflanzen die Larven des Kohlgallenrüßlers, Ceuthorhynchus sulcicollis Gyll., massenhaft aufzufinden. Auf Endivie sind Ende Oktober allerlei Blattläuse, nämlich: Aphis Intybi Koch, A. Lactucae Réaum., A. Papaveris Fabr., dann Siphonophora Sonchi L. erschienen. Der schneeweiße, wollige Ueberzug an der Wurzel der Endivie war durch die Erdlaus, Rhizobius Sonchi Pass., bedingt. Ueberdies ist eine Rostart, Puccinia Hieracii Mart., auf Endivienblättern entdeckt worden.

Stift (Wien).

Slaus-Kantschieder, J., Ueber Pflanzenkrankheiten im Gebiet von Spalato. (Zeitschr. f. d. Landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. 1905. p. 274.)

Die Bekämpfung des Oidiums und der Pernospora mittels natriumhyposulfilhaltiger Bordelaiser Brühe läßt erkennen, daß das Natriumthiosulfat eher ein Kurativ- als ein Präventivmittel gegen das Oidium zu sein scheint, doch sind zur Klärung der Frage noch weitere Versuche notwendig. Die Larve des Agriotes lineatus richtete an Rüben und Kartoffeln namhaften Schaden an und scheinen hier Schwefelkohlenstoffinjektionen ein brauchbares Mittel zu sein, während die Eingrabung von Calciumkarbid versagt hat. Zwiebelpflanzen waren von Puccinia allii, P. porri und Sclerotium cepae befallen, und wurde gegen ersteres Uebel das Bespritzen der Blätter mit Kupfervitriolkalkbrühe, gegen das zweite Uebel der Fruchtwechsel bezw. die Desinfektion des Bodens mit Schwefelkohlenstoff empfohlen. Ende Mai und anfangs Juni wurden sämtliche Pfirsichbäume im Bezirk Spalato von Aphis persicae befallen und es wurde zur Bekämpfung das bewährte Bespritzen mit Tabakextraktlösung allgemein durchgeführt. Zur Zeit der Weinlese waren Trauben von der Schwarzfäule befallen. Von den übrigen parasitären Krankheiten der Reben war wenig zu beobachten, nachdem hie und da nur Oidium tuckeri auftrat.

Stift (Wien).

Busse, Reisebericht II der pflanzenpathologischen Expedition des kolonialwirtschaftlichen Komitees nach Westafrika. (Tropenpflanzer. 1905. Heft 4.)

Die Studienreise des Verf. im südlichen Togo ging über Douglashof, Agbetiko, Tove, Misahöhe, Kpandu, Hō, Ndsolo, Wuamme, Atakpame, Nuatyä, Esse, Kuwe, Tokpli, Sebbe, Anecho, Kpeme, Lome. Gegenstand dieses Studiums waren, während der vorige Bericht dem Kakao und den Kautschukpflanzen gewidmet war, die Arten der Baumwolle und ihre Schädiger.

Von besonderer Bedeutung ist, daß die Sea-Islandbaumwolle, Gossypium barbadense, auf den Lateritböden des Misahöhebezirkes vorzüglich gedeiht, während die Uplandbaumwolle, G. hirsutum, die stark humosen Sandböden in Nuatyä bevorzugt.

Weiter ist wichtig, daß in den bereisten Gebieten Pilzkrankheiten der Wurzelorgane mit Sicherheit nicht vorhanden sind, daß also auch die berüchtigte „Welkkrankheit“ (wilt-disease) der Amerikaner vollständig fehlt. Verhinderung ihrer Einschleppung ist wünschenswert. —

Die beiden erwähnenswerten Pilzkrankheiten befallen nur oberirdische Organe. Die erste ist

die Blattfallkrankheit, welche bei G. barbadiense bezw. hirsutum die Blätter an verschiedenen Stellen angreift, wofür der verschiedene Bau der Blätter beider Arten, und das dadurch bedingte Verhalten des Taues auf ihnen maßgebend ist. Der Erreger ist entweder ein Fusarium, ein Cladosporium oder ein wohl zur Gattung Diaporthe gehörender Pilz. Weiter tritt ein

Fusarium auf, das den ganzen oberirdischen Pflanzenkörper zum Absterben bringt, aber nicht mit dem Erreger der Welkkrankheit identisch ist. Es schreitet von den Triebspitzen nach unten vor, alle unter seinem Einfluß abgestorbenen Teile mit einem zart rosa gefärbten Fusarium-Flaum überziehend.

Beide Pilzkrankheiten treten nur an geschwächten Pflanzen auf, so daß Verf. vorläufig in ihnen eine dauernde Gefahr für die Baumwollkultur in Togo nicht zu erblicken vermag. Uebrigens ist die Widerstandsfähigkeit sowohl der obengenannten Hauptbaumwollarten, wie auch einzelner Bastarde eine verschiedene, so daß durch Züchtung widerstandsfähiger Rassen ein Erfolg zu erwarten wäre, wofür bereits Anzeichen bei Gelegenheit von Versuchskulturen beobachtet werden konnten. — Auch Nebel, die im letzten Jahr in besonderer Ausdehnung und Häufigkeit auftraten, begünstigen die Ausbreitung der Schädlinge.

Von den sonst eine Erwähnung rechtfertigenden Schmarotzern gehören sämtliche in das Gebiet der Zoologie. Ein noch nicht festgestelltes Insekt schädigt besonders G. hirsutum durch Wurzelfraß, Blattläuse treten, der Witterung entsprechend, bald mehr, bald weniger auf; eine kleine, grüne Raupe, die G. hirsutum befällt, wird durch Regen in ihrer Ausbreitung gehemmt. Endlich greift ein kleiner Schmetterling die unreifen Früchte an. Es handelt sich aber hier nicht um den amerikanischen „Cotton Bollworm", Heliothis armiger, wie auch der gefährliche mexikanische Rüsselkäfer, Anthonomus grandis, bisher in Togo nicht aufgetreten ist. Paul Ehrenberg (Breslau).

Klebahn, Kulturversuche mit Rostpilzen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XV. 1905. Heft 2.)

Von der umfangreichen Arbeit, die sich früheren Veröffentlichungen des Verf. anschließt, können nur kurze Auszüge, bei minder wichtigen Kapiteln nur die bezüglichen Ueberschriften gegeben werden.

1) Ueberwinterung von Puccinia dispersa.

Die Erhaltung des Schmarotzers auf Roggenpflanzen während des Winters gelang nicht.

2) Zur Spezialisierung der Puccinia Digraphidis Sopitt.

Bei Versuchen, besonders auf Polygonatum multifl. einerseits und Convallaria majalis andererseits, zeigte sich ein erheblicher Einfluß der Gewöhnung an eine bestimmte Wirtspflanze. Und zwar äußerte sich diese Gewöhnung bei den Versuchen zwar auch in der Verminderung des Infektionsvermögens gegen die ungewohnten Pflanzen, noch mehr aber in dem Verlust der Fähigkeit, sich nach stattgehabter Infektion auf den betreffenden Pflanzen weiterzuentwickeln und Fruchtkörper zur Reife zu bringen.

3) Puccinia (Salviae) Stipae.

4) Puccinia perplexans Plowr.

Von Ranunculus acer stammend, gab nur wieder auf diesem,

nicht auf Ranunculus auricomus, repens und bulbosus Aecidien.

5) Zur Spezialisierung der Puccinia Caricis (Schum.) Rebent.

Puccinia von Carex acutiformis und vesicularia rief auf Urtica dioica Aecidien hervor. Die Rückinfektion gelang jedesmal nur auf die Carex-Art, welche das Impfmaterial für die bezügliche Urtica-Infektion geliefert hatte, so daß es sich vielleicht um zwei neue, biologisch selbständige Puccinia-Formen handelt.

6) Puccinia Polygoni amphibii.

Es kommt eine größere Anzahl von Geranium-Arten als Wirtspflanze des Aecidiums in Betracht.

7) Puccinia Violae DC.

8) Eine neue Form von Uromyces Dactylidis Otth.

Bildet auf Ranunculus languinosus Spermogonien, später reichlich Aecidien.

9) Pleophagie und Spezialisierung bei Uromyces Scirpi (Cast.) Lagerh.

Pastinaca sativa ergab sich als neuer Aecidienwirt, ebenso Berula angustifolia und Oenanthe aquatica. — Neben dieser nicht besonders auffälligen Pleophagie (die drei Gattungen gehören zu derselben Pflanzenfamilie) kommen bei der Uromyces Scirpi aber auch sehr merkwürdige Spezialisierungsverhältnisse vor. Die Spezialisierung scheint sich nur auf gewisse Wirte, nicht auf alle, zu erstrecken.

10) Uromyces Alchemillae (Pers.) Lev.

11) Gymnosporangium clavariaeforme (Jacq.) Ress. und juniperinum (L.) Fr.

Gymnosp. cl. brachte Aecidien auf Crataegus Oxyacantha, Pirus communis, Amelanchier vulgaris hervor.

12) Ochropsora Sorbi (Oud.) Dietel und Aecidium leucospermum DC.

Ochropsora Sorbi kommt, in Bestätigung der Angaben Tranzschels, ziemlich häufig auf $^1/_2$ m hohen Exemplaren von Sorbus aucuparia vor. Ebenso ist die Angabe desselben Forschers, daß Aec. leuc. die Aecidienform von Och. Sorb. ist, experimentell bestätigt.

13) Coleosporium Campanulae (Pers.) Lev.

Das Verhalten der nach den bisherigen Versuchen sicher zu unterscheidenden drei Formen des Col. zu verschiedenen Campanula-, Phyteuma-, Wahlenbergia- und Jasione-Arten wird tabellenmäßig vorgeführt.

14) Die Pleophagie des Cronartium asclepiadeum (Willd.) Fr.

Das Cron. lebt in derselben Generation auf Vincetoxicum, Paeonia, Nemesia versicolor, Verbena teucrioides, Impatiens Balsamina, Verbena erinoides, also auf fünf Gattungen aus fünf verschiedenartigen Pflanzenfamilien. Dabei findet sich zugleich enge Spezialisierung.

15) Peridermium Pini (Willd.) Kleb.

16) Infektion von Pinus Strobus mittels Cronartium ribicola Dietr. und Rückschläge zur Jugendform bei Kiefern.

Die künstliche Infektion der Weymouthskiefer mit Sporidien von Cron. gelingt, und zwar im Herbst auf den jeweilig jüngsten Teilen; sie führt schon im folgenden Sommer zum Auftreten der ersten Spermogonien. Wahrscheinlich kommt die Infektion in der Natur in ähn-

licher Weise zu stande. Vielleicht als Folge der Infektion zeigen sich Rückschläge zur Jugendform der Nadeln der Kiefer.

17) Chrysomyxa Rhododendri (DC.) de Bary.

18) Chrysomyxa Worinini Tranzschel?

19) Pucciniastrum Epilobii (Pers.) Otth.

Puccin. Epilobii zeigt gegenüber Puccin. Abieti-Chamaenerii auch morphologische Unterschiede.

20) Pucciniastrum Circaeae (Schum.) Spegaz.

Die Erhaltung des Pilzes durch in den Rhizomen überwinterndes Mycel ist wenig wahrscheinlich, noch weniger ist an überwinternde Uredolager zu denken.

21) Melampsorella Aspidiotus (Perk.) P. Magn.

22) Melampsoridium betulinum (Pers.) Kleb.

Die Spezialisierung des Melamps. bezüglich betula verrucosa und pubescens wird durch neue Versuchsergebnisse bestätigt.

23) Melampsora Klebahni Bubák mit Melampsora Magnusiana Wagner identisch.

24) Melampsora Allii-populina Kleb.

25) Melampsora Allii-Salicis albae Kleb.

Die Melamps. hat zwei Arten der Ueberwinterung und der Reproduktion im Frühjahr:

a) Ueberwintern die Teleutosporen, rufen im Frühjahr auf Allium-Arten Caeoma hervor, und von diesen aus neue Uredo auf Salix alba.
b) Ueberwintern lokalisierte Infektionsstellen in der Rinde der Zweige und veranlassen im Frühjahr, schon vor dem Auftreten des Caeomas, die Entstehung von Rindenuredolagern.

26) Melampsora Allii-Fragilis Kleb.

27) Eine Form von Melampsora Larici-Capraearum Kleb. auf Salix Smithiana Willd.

28) Melampsora Larici epithea Kleb. auf Salix retusa.

Es handelt sich wahrscheinlich um eine an Salix retusa angepaßte Rasse.

29) Melampsora Hypericorum (DC.) Schroet.

Auf Hypericum-Arten kommen außer Teleutosporen sowohl Caeomalager wie auch echte Uredolager mit Paraphysen vor.

30) Aecidium Pseudocolumnare Kühn.

Paul Ehrenberg (Breslau).

Aderhold, R., Ueber den durch teilweise Zerstörung des Blattwerkes der Pflanze zugefügten Schaden. (Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz. Jahrg. III. 1905. Heft 2. p. 14—17.)

Da durch viele Krankheiten unserer Kulturpflanzen das Blattwerk zerstört wird, wird die Frage aufgeworfen, wie groß der dadurch der Pflanze zugefügte Schaden sein könne. Da diesbezügliche Impfversuche nicht zum Ziele führten, wurden durch Verstümmelungen und Besprühungen mit giftigen Substanzen auf den Blättern Beschädigungen hervorgerufen, wie sie bei Erkrankungen entstehen, und dann die Erntemenge mit derjenigen unbehandelter Pflanzen verglichen. Die mit Gerste-, Weizen- und Rübenkulturen ausgeführten Versuche ergaben folgende Resultate:

Durch die völlige und bei Gerste auch teilweise Entblätterung

wurde die Länge der Getreidehalme stark beeinträchtigt und betrug die Gesamterntemasse bei völlig entblätterten Pflanzen nur 57—59 Proz. gegenüber den Halmen, die nicht entblättert wurden. Durch die Entfernung der halben Blattspreite wurde der Ertrag um $^1/_5$ vermindert. Eine nur teilweise Schädigung der Getreidepflanze bei Entblätterung ist der Assimilationstätigkeit der Scheiden und Halme zuzuschreiben.

Die Blätter der Rüben wurden bei ausgeführten Versuchen, teils verkleinert, teils mit einer 1-proz. Kupfersulfat- oder 1-proz. Salzsäurelösung bespritzt, teils — bis auf die 5—6 jüngsten Blätter — ganz entfernt; einige Pflanzen wurden ohne Behandlung gelassen. Sowohl bei Verkleinerung der Blätter, als auch beim Abblatten bis auf 5—6 Blätter wurde eine Schädigung der Pflanzen konstatiert, während das Bespritzen mit Kupfersulfat den Ertrag nicht erheblich beeinträchtigte, hingegen dasselbe bei Anwendung einer 1-proz. Salzsäurelösung den Ertrag anscheinend erhöhte. Da die durch Cercospora beticola Sacc. hervorgerufenen Flecken einen großen Teil der Blattflächen einnehmen und denselben vernichten, müssen derartige Zerstörungen den durch künstlich hervorgerufene Blattbeschädigungen verursachten Gesamtschäden gleichgestellt werden. Von einer Ueberproduktion der Rübe an Blättern kann daher auch nicht die Rede sein. Weitere Versuche bezwecken die Ermittelung einer Methode zur Schätzung des durch Blattbeschädigungen verursachten Schadens. Pósch (Grinád).

Laubert, R., Die Taschenkrankheit der Zwetschen und ihre Bekämpfung. (Kaiserl. Gesundheitsamt. Biol. Abt. f. Land- und Forstwirtschaft. Flugblatt No. 30. 2. Aufl. März 1905.)

Ueber die erste Auflage wurde bereits referiert. In der zweiten Auflage ist eine neue Originalabbildung der Ascus-Schicht des Exoascus enthalten. (In der nächsten Auflage wird Prunus virginiana als Wirtspflanze des Exoascus pruni zu streichen sein, da der auf Pr. virginiana vorkommende Exoascus nach neueren Untersuchungen von Eroascus pruni verschieden ist.) Laubert (Berlin).

Bonygues, H., Sur la Nielle des feuilles de tabac. (Comptes rendus de l'Ac. des Sci. Paris. T. CXXXVII. 1903. p. 1303—1305.)

Verf. hat berechnet, daß die Schäden, die in den Tabakspflanzungen im Lottal als Brand (Nielle), Weißrost oder auch Mosaikkrankheit (Blattfleckenkrankheit) bezeichnet wird, sehr beträchtlich sind ($^2/_3$ der Ernte). Die Entwickelung der Krankheit beginnt stets an der Oberseite des Blattrandes; hier und da verblaßt die grüne Färbung und geht in ein grünliches Gelb über. Dieser Beginn der Chlorose ist von Welken und Einsinken des betroffenen Gewebes begleitet, wodurch auch die Bildung von punktförmigen Näpfchen herbeigeführt wird, deren Durchmesser sich mehr und mehr vergrößert. Die fleckigen Stellen werden später sehr morsch und durch den Wind weggeweht, so daß die Blätter schließlich ein siebartig durchlöchertes Aussehen erhalten, wodurch sie jeden Handelswert verlieren.

Was die Natur der Krankheit selbst anbetrifft, so führen die persönlichen Untersuchungen den Verf., gleich Prillieux und Iwanovski, dazu, ihr einen bakteriellen Ursprung zuzuschreiben, eine Ansicht, die derjenigen Beijerincks entgegengesetzt ist, der die Krankheit auf das Vorhandensein eines Contagium vivum fluidum im Innern der Pflanze zurückführt. Houard (Paris).

Delacroix, G., Sur la maladie du Cotonnier en Egypte. (L'agriculture pratique des pays chauds. T. II. Paris 1903. p. 135—143.)

Die dem Verf. zugegangenen Proben des ägyptischen Baumwollstrauches zeigten an der Basis des Stengels eine der Länge nach verlaufende Einsenkung, die sich mehr oder weniger erweitert und von brauner Farbe ist; der Stengel neigt sich, die unteren Blätter bleiben kümmerlich, verlieren ihre Turgeszenz, werden gelb, senken sich nach dem Boden zu und verwelken; schließlich geht die Pflanze ein. Ein verzweigtes, mit Scheidewänden versehenes Mycelium ist in sämtlichen Geweben der Rinde, des Markes und im Holzparenchym sichtbar. Auf der Oberfläche der Wunde trifft man zahlreiche spindelförmige, gekrümmte Sporen von dem Fusarium-Typus.

Verf. ist der Ansicht, daß sich diese Krankheit nicht von der von Atkinson 1892 in den Vereinigten Staaten am Baumwollstrauch beobachteten unterscheidet, welche kürzlich noch von E. F. Smith und Orton studiert worden ist, und durch Neocosmospora vasinfecta verursacht wird. Der Boden ist der Uebermittler der Krankheit, und Verf. schlägt folgende zur Vernichtung führende Behandlung vor: Die kranken Stöcke sind auszureißen und zu verbrennen; die infizierte Region ist durch einen tiefen Graben abzuschließen; sie muß 3 Jahre brach liegen und ist von Unkraut zu reinigen. Gleichzeitig kann auch der Erdboden mit Formol mittels des Injektionspfahls desinfiziert werden.

Houard (Paris).

Gerber, C., Sur une hyménoptérocécidie. (Bull. soc. ent. France. Paris 1903. p. 56.)

Verf. legt dem Kongreß der entomologischen Gesellschaft Gallen vor, die auf den Stengeln von Centaurea aspera durch einen Aulax hervorgerufen sind, welcher von Aulax scabiosae sehr abweicht und gleichfalls Cecidien auf dem Stengel von Centaurea scabiosa erzeugt.

Houard (Paris).

Darboux, G., [Zoocécidies de Caissargues.] (Bull. soc. études Nîmes. T. XXX. p. 32—33.)

Verf. gibt eine Liste von etwa 20 Zoocecidien, die in der Umgebung von Caissargues (Gard) gesammelt worden sind. Er gibt, ohne sie weiter zu beschreiben, eine neue, von einer Cynipide herrührende Galle auf Quercus Ilex an.

Houard (Paris).

Börner, Carl, Zur Naturgeschichte der Kornmade (Hadena secalis L.). (Deutsche Landwirtschaftliche Presse. 1905. p. 259.)

Verf. beobachtete in diesem Jahre und im Vorjahre wiederholt in der Umgebung von Berlin eine totale Weißährigkeit an Roggenpflanzen, als deren Urheber sich die Raupe der Eulenart Hadena secalis L. herausstellte, welche man auch als H. didyma Esp. bezeichnet findet. Dieser Roggenschädling verursacht in Deutschland nur selten einen größeren Schaden, während in Finnland im Jahre 1897 Schäden von 50—100 Proz. beobachtet worden sind. Da nach der deutschen landwirtschaftlichen Literatur H. secalis ein Feind des „Weizens und anderer Grasarten“ sein soll, was in Wirklichkeit nicht zutrifft, ferner die Angaben über die Biologie des Schmetterlings einander oft widersprechen, so gibt Verf. eine genaue Beschreibung des Schmetterlings und der Raupe. Beim Angriff der Roggenpflanzen dringt die Raupe von oben her, meist ohne

die Pflanze zu verletzen, zwischen der obersten Blattscheide und dem Halm ein und frißt den hier eingeschlossenen Pflanzenteil an. Ist die Aehre noch in der Blattscheide geborgen, so wird von der Kornmade ein Teil der Blüten auf- oder ausgefressen, bis zuletzt der Aehrenstiel oder auch wohl die Aehrenspindel an- und schräg durchgenagt wird. Ist die Aehre schon vor dem Angriff der Kornmade aus der Scheide herausgewachsen, so bleibt sie unberührt, und die Raupe begnügt sich damit, den Halm unter der Aehre und innere Teile der Blattscheide anzufressen, ehe sie den Halm durchbeißt, um in den unteren Teil desselben einzudringen und dessen Innenwände abzunagen. In allen Fällen stirbt natürlich der Endteil der befallenen Pflanze ab, indem sich die Aehre meist etwas herabkrümmt und ihre Grannen auseinanderspreizen. Von den der Kornmade anheimfallenden Pflanzen stirbt ab und vertrocknet also zunächst nur deren Endteil und mit ihm die Aehre, während ihr grundständiger Teil durchaus gesund und grün bleibt. Durch dieses typische Krankheitsbild ist man in den meisten Fällen in der Lage, ohne nähere Untersuchung an einer weißährigen Roggenpflanze zu entscheiden, ob ein Befall durch die Kornmade oder durch Cephus pygnaeus, die kleine Halmwespe, vorliegt. Die Beschädigungen können sich aber in ihrer äußeren Erscheinung einander unter bestimmten Umständen gleichen, so daß eine nähere Untersuchung ersterer geboten erscheint. Beim Angriff der Kornmade ist der Halm (normalerweise über dem letzten Knoten) seitlich verletzt und meist schräg durchgebissen; zwischen Blattscheide und Stengel findet sich grobkörniges, fest zusammengepreßtes Fraßmehl; die Aehre läßt sich fast stets leicht aus der Blattscheide herausziehen. Bei Cephus ist der Halm äußerlich unverletzt (abgesehen von der Stichwunde des Eier legenden Weibchens); er läßt sich nicht ohne Verletzung der Pflanze aus der Blattscheide herausziehen; in seinem Inneren aber befindet sich die kleine beinlose Larve, je nach dem Stadium der Krankheit in den oberen oder unteren Teilen der Pflanze. Die Kornmade durchbohrt nie einen Knoten, die Aehre der von ihr befallenen Pflanzen tötet sie jedoch ausnahmslos, während die Cephus-Larve bei sehr kräftigen Pflanzen bisweilen keinen tödlichen Einfluß auf deren Aehren ausübt. Da die Cephus-Larve während ihrer ganzen Entwickelung in einer Roggenpflanze verbleibt, eine Kornmade jedoch bis zu 10 und mehr Pflanzen weißährig macht, so ist der eingangs hervorgehobene Schaden leicht begreiflich, den die Halmwespe bis jetzt noch niemals verursacht hat. Eine Bekämpfungsmaßnahme gegen die Kornmade verbietet sich durch ihre Lebensweise. Mehrere Schmarotzer (eine Tachine und eine Ichneumonide) dezimieren aber die Larven vielfach in beträchtlichem Maße. Die Raupe der Hadena secalis kommt in ihren Lebensgewohnheiten jener des Kleinschmetterlings, Ochsenheimeria taurella Schiff. nahe, der auch wiederholt als Roggenschädling verzeichnet werden mußte. In Rußland gesellt sich zu ihnen die Graseule, Tapinostola frumentalis Lind. Die Angaben älterer Autoren, nach denen die Raupe der Hadena secalis an den Blättern der Schwertlilie, an Weizen und anderen Grasarten, sogar deren Wurzeln leben sollen, dürften auf Verwechselung der Larven mit denen anderer Falter beruhen. Stift (Wien).

Hollrung, M., Einige Bemerkungen über die Blattminierfliege (Anthomyia conformis), sowie die Trockenfäule

(Schorfigkeit) der Zuckerrüben. (Zeitschrift des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. 1905. p. 407.)

Die Mitteilungen beziehen sich auf das Jahr 1904, welches in den Sommermonaten durch eine abnorme Dürre ausgezeichnet war und die Beobachtung bestätigte, daß Jahre mit trockenem Charakter weniger Pilz- als vielmehr Ungezieferjahre zu sein pflegen. Mit Ausnahme des vom Verfasser als echter Parasit nicht anerkannten, in Begleitung der Trockenfäule auftretenden Pilzes Phoma Betae hatte die Rübe nur unter Insektenschäden und Ernährungsstörungen zu leiden. Letztere bildeten eine Begleiterscheinung der Dürre, während von den tierischen Feinden der Zuckerrübe die Blattminierfliege, Blattläuse und Nematoden erhebliche Schädigungen hervorriefen. Auffallend gering war das Auftreten von Erdraupen, Aaskäfern und Schildkäfern, welche nach den bisherigen Erfahrungen in trockenen Jahren eine besonders starke Ausbreitung gewinnen. Die Phytopathologie steht derartigen Widersprüchen leider immer noch ohne eine ausreichende Erklärung gegenüber. Die Made der Blattminierfliege höhlt das Rübenblatt aus, welches bei Eintritt feuchteren Wetters rasch in Verfall überzugehen pflegt, ohne daß sich dadurch die darin sitzenden Maden irgendwie beeinträchtigt fühlen, da sie den Einwirkungen der mit Fäulnisorganen durchsetzten Massen einen erheblichen Grad von Widerstandskraft entgegensetzen. Ist erst das Puppenstadium erreicht, so schadet ihnen ein Aufenthalt im Feuchten, ganz im Gegensatz zu vielen anderen in der Puppenruhe befindlichen Insekten, kaum noch. Der Hauptsache nach treten die Schädigungen durch die erste Jahresbrut auf, während die zweite Brut anscheinend weniger schadet. Runkelrübe und Samenrübe werden ebenso befallen wie die Zuckerrüben; in der Mitte der Felder pflegt der Schaden etwas größer zu sein als am Rande. Daß in dem trockenen Jahre 1904 die blattminierenden Insekten, nicht nur an der Zuckerrübe, sondern auch an anderen Feldfrüchten auffallend stark hervortraten, ist kein Zufall, da den Minierfliegen der Schutz, welchen ihnen der Aufenthalt im Blatt zwischen der festen Ober- und Unterseite des Blattes gewährte, sehr zu statten kam. Sperlinge sind eifrige Vertilger der Maden der Runkelfliege und es stellen vermutlich auch andere Insektenfresser dem Schädiger nach.

Die Trockenfäule der Zuckerrüben — Fälle von Herzfäule waren selten — hat im Jahre 1904 den höchsten Grad erreicht, welcher bisher beobachtet werden konnte. Diese Erscheinung ist ein neuer Beweis für die vom Verfasser seit dem ersten Auftreten der Krankheit verfochtene Ansicht, daß trockene Witterung oder mangelhafte Feuchtigkeitsverhältnisse des Bodens den Hauptanlaß zur Entstehung der Trockenfäule bilden. Wenn dem Boden die genügende Feuchtigkeit fehlt, so unterbleibt die Lösung der Bodennährstoffe, die Ernährung der Rüben wird gehemmt, das Zellgewebe des Rübenkörpers verliert seine Turgeszenz. Naturgemäß tritt dieser Vorgang an den von der Nebenwurzelrinne am weitesten entfernten Teilen des Wurzelkörpers zuerst und am stärksten zu Tage, infolgedessen auch hier die Krankheit, d. h. die zersetzende Tätigkeit des Phoma Betae-Pilzes, zuerst ausbricht. Da eine völlige Beseitigung dieses Pilzes zu den Unmöglichkeiten gehört, so bleibt als einziger Schutz gegen die Krankheit nur die Erhöhung der wasserhaltenden Kraft des Bodens. Verf. zeigt weiter unter Hervorhebung bestimmter Fälle, daß die an Trockenfäule erkrankten Rüben im Jahre 1904 das Opfer eines mit Rücksicht auf den sommerlichen Regenmangel

zu kräftigen anfänglichen Wachstums geworden sind. Ein weniger üppiges Anfangswachstum würde unter den obwaltenden Umständen für diese Rüben günstiger gewesen sein. Je größer die Pflanzenmasse der Zuckerrübe, desto erheblicher die Ansprüche, welche die Erzeugung und Erhaltung einer solchen an den Wasservorrat des Bodens stellen und desto eher unter sonst gleichen Umständen Erschöpfung des letzteren. In Gegenden, welche erfahrungsgemäß unter Trockenfäule leiden, sollte bei jeder Kulturmaßnahme die Frage, ob dieselbe geeignet ist, einen unerwünscht kräftigen Anfangstrieb der Rüben zu veranlassen, eingehende Berücksichtigung finden. Dabei müßte für alle Fälle der Grundsatz festgehalten werden, daß es zweckentsprechender ist, eine etwas kleinere, aber unter allen Umständen gesicherte als eine größere, aber bei Witterungsungunst einem mehr oder weniger vollständigen Mißerfolg unterworfene Rübenernte anzustreben. Von diesem Standpunkt aus betrachtet, kann die Arbeit des Dampfpfluges vom Uebel sein, nämlich dann, wenn sie zuviel toten Boden an die Oberfläche bringt, und dieser nicht Gelegenheit findet, während der Wintermonate die für die Rübenkultur erforderliche gute Krümelstruktur anzunehmen. Derartiges Feld gibt anfänglich infolge des starken kapillaren Leitungsvermögens der ungegahrten Untergrundsbestandteile unnötig viel Wasser teils an die Pflanzen, teils an die Luft ab. In Gegenwart reichlicher Düngungen schießen infolgedessen die Rüben zunächst stark ins Kraut, um später verdursten zu müssen. Zu dem gleichen Effekt kann eine zu starke Stickstoffdüngung, z. B. Stallmist und Chilisalpeter führen. Zu den früher vom Verfasser gegebenen Anweisungen hinsichtlich der Trockenfäule, welche der Hauptsache nach in einer Erhöhung der wasserhaltenden Kraft des Bodens durch Untergrundlockerung und Zufuhr von Kalk sowie organischer Substanz bestehen, würde sich nach den letztjährigen Erfahrungen noch hinzugesellen die Regelung des jugendlichen Wachstums der Zuckerrübe in dem Sinne, daß eine übermäßige Stickstoffzufuhr und damit ein ungesund üppiges Anfangswachstum vermieden wird.

Stift (Wien).

Kurzwelly, Walther, Ueber die Widerstandsfähigkeit trockener pflanzlicher Organismen gegen giftige Stoffe. (Jahrb. f. wissensch. Botan. Bd. XXXVIII. p. 291.)

Die Experimente des Verf. wurden mit Moosen, ölhaltigen und ölfreien Samen und Früchten, Pilzsporen, Hefezellen, Spaltpilzen und deren Sporen angestellt. Für diese Zeitschrift haben nur seine Resultate mit den vier letztgenannten Interesse und werden deshalb nur diese hier besprochen. Verf. experimentierte mit den folgenden Arten: Aspergillus niger, Phycomyces nitens, Sacch. cerevisiae, Micrococcus prodigiosus, Sarcina rosea und Bacillus subtilis. In Betreff des von ihm angewandten Sacch. cerevisiae weiß man nicht, ob die Art eine Oberhefe oder Unterhefe war; die Hefe war von Brauereihefe isoliert. Die folgenden chemischen Agentien wurden benutzt: Alkohol, Aether, Benzol, Schwefelkohlenstoff und Chloroform, also teils wasserlösliche, teils nicht lösliche Substanzen. Aether, Schwefelkohlenstoff und Chloroform wurden außer in flüssigem, auch in dampfförmigem Zustande angewendet. Damit nicht Alkohol, Aether und Chloroform Feuchtigkeit heranziehen sollten, wurden diese Substanzen über reinem Calciumoxyd aufbewahrt.

Die Reinkulturen, von denen aus die Organismen geerntet wurden,

waren gezüchtet, bei Asp. niger und Phyc. nitens auf mit schwach saurer Zuckerlösung getränktem, fraktioniert sterilisiertem Brot, bei Sacch. cerevisiae, Microc. prodigiosus, Sarcina rosea und Bac. subtilis auf Agarnährboden in Petri-Schalen.

Die Ernte erfolgte, wenn die jeweilige Kultur auf ihrem Höhepunkte sich befand. Mit Ausnahme von Phyc. nitens wurden die in den flachen Petri-Schalen gezogenen Organismen auf 25 mm lange und 5 mm breite sterilisierte Streifchen von Filtrierpapier aufgeschmiert: mit steriler Pinzette wurden die Streifchen leicht über die Kultur hingezogen und in steriler Schale verwahrt. Entweder kam sie in dieser sogleich in den Exsikkator oder sie wurden frisch sofort in die mit dem jeweiligen Medium gefüllten, vorher lufttrocken sterilisierten Glasstopfenflasche eingelegt. Die ca. 10 cm hohen Rasen von Phyc. nitens wurden mit steriler Schere direkt abgeschnitten und, in steriles Fließpapier eingeschlagen, in die Medien eingelegt. Der Aufenthalt zum Trocknen im Exsikkator war nicht für alle Organismen von gleicher Dauer. Er erstreckte sich bei den Pilzsporen, Hefe und Heubacillus auf 2 Wochen und mehr. Microc. prodigiosus und Sarc. rosea wurden nicht länger als 8 Tage im Exsikkator gelassen, da sie sonst nicht mehr recht auskeimen wollten.

Die je nach dem betreffenden Versuch in bestimmten Zeitabständen entnommene Probe wurde 2 Tage lang in sterilem, beiderseits mit Watte verschlossenem Glasrohr bei Zimmertemperatur und Lichtabschluß trocknen gelassen, so daß jede Spur anhaftenden Mediums verdunstete.

Der Nährboden bestand bei Asp. niger und Hefe in einer ganz schwach sauren Nährlösung, die für Hefe 7 Proz. Traubenzucker enthielt, bei Phyc. nitens in gleichfalls saurer Peptonfleischextraktgelatine, bei Microc. prodigiosus und Bac. subtilis in schwach alkalischer 1,5-proz. Peptonfleischextraktbouillon, bei Sarc. rosea in einem neutralisierten Gemisch aus gleichen Teilen Bouillon und 10 Proz. Heuabkochung.

Die Resultate der Versuche, bei welchen die Mikroorganismen in frischem Zustande, ohne vorangegangenen Aufenthalt im Exsikkator, in die wasserfreien Medien eingelegt wurden, waren in betreff der Vegetativzustände die folgenden: Nach 24 Stunden zeigte sich Microc. prodigiosus in allen Medien abgestorben. Desgleichen Sarc. rosea, die jedoch Alkohol 24 Stunden zu ertragen vermochte und erst nach 2 Tagen getötet war. Sacch. cerevisiae hielt Alkohol 3 Tage aus, Aether 1 Tag, Benzol und Schwefelkohlenstoff töteten ihn nach Verlauf von 24 Stunden. Die Sporen zeigten sich dagegen gegen sämtliche Flüssigkeiten in hohem Grade resistent. So waren ungetrocknete Sporen von Asp. niger nach einem Aufenthalte von 76 Tagen in Alkohol, von 561 Tagen in Aether, von 345 Tagen in Benzol und von 62 Tagen in Schwefelkohlenstoff noch am Leben, und eingetrocknete Sporen von Phyc. nitens vertrugen einen Aufenthalt von 56 Tagen in Alkohol, von 112 Tagen in Aether, von 238 Tagen in Benzol und von 56 Tagen in Schwefelkohlenstoff ohne abzusterben.

Mit exsikkatortrockenem Material waren die Einwirkungszeiten, nachdem die Arten noch am Leben waren, die folgenden: Microc. prodigiosus: 14 Tage Alkohol, 14 Tage Aether, 14 Tage Benzol, 63 Tage Schwefelkohlenstoff. Sarc. rosea: 7 Tage Alkohol, 14 Tage Aether, 14 Tage Benzol, 7 Tage Schwefelkohlenstoff, 3 Tage Chloroform. Sacch. cerevisiae: 363 Tage Alkohol, 419 Tage Aether, 209 Tage Benzol, 244 Tage Schwefelkohlenstoff.

(Die Ursache dieser Widerstandskraft bei Sacch. cerevisiae ist Verf. geneigt, in der schleimigen Membranaußenschicht der Zellen zu suchen. Er begeht aber hier einen Fehler, wenn er sagt, daß diese Membranaußenschicht von de Bary in seiner „Vergl. Morph. u. Biol. d. Pilze“ beobachtet und beschrieben sei. De Bary spricht nur eine Vermutung aus, und weist nur auf die Möglichkeit hin, daß gewisse chemische Untersuchungen von Nägeli und Loew vielleicht darauf deuten mögen, daß eine solche Schleimbildung sich finde. Weder eine chemische, noch eine mikroskopische Untersuchung gibt hier Aufklärung. Erst im Jahre 1885 teilte E. Chr. Hansen eine besondere Präparationsmethode mit, durch welche eine Schleimhaut bei den Hefezellen zum Hervortreten gebracht werden kann. Was wir darüber wissen, verdanken wir den Untersuchungen von ihm und später von Will. Bei diesen Verff. sind Aufklärungen über die genannte Bildung zu suchen. Anm. des Ref.)

Asp. niger-Sporen: 267 Tage Alkohol, 479 Tage Aether, 86 Tage Schwefelkohlenstoff. Bac. subtilis-Sporen: 278 Tage Alkohol, 278 Tage Aether, 278 Tage Benzol, 98 Tage Schwefelkohlenstoff, 278 Tage Chloroform.

In den folgenden Versuchen wurden die Sporen vor dem Einlegen in die Medien 3 Stunden lang in sterilem, reinem Wasser digeriert und erst dann in die Flüssigkeit gebracht. Alkohol und Aether töteten dann die Sporen von Phyc. nitens und Asp. niger schon nach 24 Stunden ab. Hingegen wurde Benzol von den Aspergillus-Sporen 33 Tage, von den Phycomyces-Sporen 14 Tage vertragen, und Schwefelkohlenstoff von ersterem 23 Tage, von letzterem 7 Tage. Von den Bac. subtilis-Sporen wurde Alkohol 277 Tage, Aether 98 Tage, Benzol 277 Tage, Schwefelkohlenstoff 42 Tage und Chloroform 277 Tage vertragen.

Wenn die Organismen mit Wassermischungen von Alkohol oder von Aether behandelt wurden, waren sie alle weniger resistent als in den konzentrierten Lösungen. Microc. prodigiosus und Sarc. rosea wurden in sämtlichen Verdünnungen beider Medien nach 24 Stunden getötet. Exsikkatortrockener Sacch. cerevisiae vertrug: 15-proz. Alkohol 30 Tage, 22-proz. 1 Tag, 90-proz. 4 Tage, 10-proz. Aether 1 Tag; 30—80-proz. Alkohol wurde nicht 1 Tag vertragen. Exsikkatortrockene Sporen von Asp. niger vertrugen: 15-proz. Alkohol 14 Tage, 22-proz. 7 Tage, 80-proz. 7. Tage, 90-proz. 70 Tage, 97-proz. Aether 70 Tage und 10-proz. 7 Tage.

Eine sehr hohe Widerstandskraft zeigten die exsikkatortrockenen Sporen von Bac. subtilis; sie vertrugen nämlich 15, 20, 30, 60, 80 und 90-proz. Alkohol in 276 Tagen und 10-proz. Aether in 42 Tagen und 97-proz. in 154 Tagen. Nicht einmal in der Schnelligkeit des Auskeimens wurden sie beeinflußt.

Einige Versuche stellte Verf. auch mit 3-proz. Phenolalkohol und 1‰ Sublimatalkohol mit Sporen von Asp. niger an; die erstgenannte Mischung wurde nach einer Einwirkungsdauer von 133 Tagen und die letztgenannte nach einer solchen von 56 Tagen vertragen.

Wurden exsikkatortrockene Sporen von Asp. niger 3 Stunden in Alkohol gekocht, starben sie ab, während sie nach einer Kochdauer von 2 Stunden noch am Leben waren.

In trockener, heißer Luft von 100° waren die Aspergillus-Sporen nach 60 Minuten tot, während unter diesen Umständen die Hefe

erst nach 4 Stunden abgestorben war. Noch weniger vermochte ihr siedender Alkohol etwas anzuhaben. Nach 15 Stunden währendem Kochen keimte die Hefe unbehelligt aus. Die Sporen von Bac. subtilis waren nach 15-stündigem Kochen in Alkohol sogar schon nach 1 Tage ausgekeimt. Wie lange diese Organismen das Kochen in Alkohol weiterhin vertragen, hat Verf. nicht untersucht.

Schließlich seien noch die Versuche über die Einwirkung dampfförmiger Medien auf Mikroorganismen angeführt. Verf. brachte die Objekte in kleine, mit Watte verschlossene sterile Kölbchen und setzte sie in diesen der betreffenden Dampfatmosphäre aus. Während Microc. prodigiosus flüssigen Schwefelkohlenstoff 63 Tage aushielt, konnte er nur den dampfförmigen 2 Tage vertragen, flüssigen Aether 14 Tage, Aetherdampf 10 Tage. Sarc. rosea verträgt flüssigen Aether 14 Tage, Aetherdampf nur 10, flüssigen Schwefelkohlenstoff 7 Tage, dampfförmigen 4 Tage. Aspergillus-Sporen vertragen flüssigen Schwefelkohlenstoff 94 Tage, durch dampfförmigen werden sie schon nach 39 Tagen abgetötet. Chloroform in Dampfform tötet sie nach 121 Tagen, während ihnen flüssiges Chloroform nach 365 Tagen noch nicht im geringsten geschadet hat. Aetherdampf hatte sie im Verlauf von 178 Tagen noch nicht abzutöten vermocht; flüssigen Aether vertragen sie durch 642 Tage.

Die Hauptresultate des Verf. können im folgenden zusammengefaßt werden:

Vegetativzustände sind weniger resistent als Dauerformen.

Für beide gilt, daß sie frisch früher abgetötet werden als in getrocknetem Zustande. Ferner: exsikkatortrockene Objekte sind widerstandsfähiger als lufttrockene.

In allen Fällen sind die Medien früher oder später in die Objekte eingedrungen.

Der Auskeimungstermin sämtlicher Versuchsobjekte geht mit der Länge der Einwirkungsdauer der Medien zurück.

Exsikkatortrockene Sporen von Phycomyces nitens halten sich in 100-proz. Alkohol besser und länger keimfähig, als wenn sie lufttrocken aufbewahrt werden.

Mit Wasser digerierte Sporen gehen in den Medien bedeutend schneller zu Grunde als getrocknete, und zwar um so rascher, je leichter sich die Medien in Wasser lösen.

Die angewandten Medien sind wasserfrei weniger schädlich als in mit Wasser verdünntem Zustande.

Antiseptika werden in Lösung von absolutem Alkohol in ihrer Wirkung herabgesetzt.

Die Medien wirken dampfförmig intensiver als im flüssigen Zustande.

Durch Austrocknen wird die Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperatur sehr gesteigert. Klöcker (Kopenhagen).

Bokorny, Th., Ueber Reaktionen der lebenden Zellen auf stark verdünnte Lösungen verschiedener Stoffe. (Pflüg. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. CVIII. 1905.)

Nachdem Verf. schon früher auf die merkwürdige Empfindlichkeit von Algen gegen Kupfervitriol und Kupfersalze überhaupt aufmerksam geworden war, studierte er den Verlauf der von Naegeli als „oligodynamisch" bezeichneten Wirkungen und verglich damit die Wirkung der Bleisalze. Auch Sublimat wurde in den Kreis der Betrachtung hereingezogen.

Es wurde dabei von dem Gedanken ausgegangen, daß die Giftwirkung der genannten Schwermetallsalze bedingt sei von einer gewissen Verbindungsfähigkeit der Salze mit dem Protoplasmaeiweiß, da ja Eiweißstoffe mit Schwermetallen Verbindungen einzugehen vermögen.

Vom Kupferhydroxyd, welches ja in den Kupfersalzen an Säure gebunden auftritt, ist schon längst bekannt, daß dasselbe die Albuminate völlig ausfüllt unter chemischer Bindung; es eignet sich nach Stutzer zur quantitativen Bestimmung der Eiweißstoffe.

So ist es auch mit vielen anderen Schwermetallen. Mit salpetersaurem Silber z. B. bildet das Eiweiß der Spirogyren ein in Ammoniak lösliches Silbersalz von der Formel $C_{144} H_{222} N_{26} SO_{66} Ag_{16}$; die Formel des Algeneiweißes selbst ist nach O. Loew $C_{144} H_{270} N_{34} SO_{48}$.

Bleiessig gilt als vollkommenes Fällungsmittel für Albuminate.

Der käufliche Bleiessig enthält etwa 40 Proz. basisch essigsauren Bleies. Verdünnt man so weit mit destilliertem Wasser, daß eine 0,5-proz. Lösung entsteht, dann hat man damit eine recht giftig wirkende Flüssigkeit hergestellt.

Infusorien sterben darin unter Trübung binnen wenigen Minuten ab. Ebenso Algen verschiedener Gattung.

Um zu sehen, mit welchem Bestandteil der Zelle sich der Bleiessig verbunden habe, ließ Verf. nach oftmaligem gründlichen Auswaschen mit destilliertem Wasser Schwefelwasserstoff-Wasser einwirken, das bekanntlich schwarzes Schwefelblei ausfällt.

Es trat eine intensive Schwarzfärbung im Protoplasma und Zellkern ein, sonst keine Färbung. Also war das Bleisalz faktisch mit dem Protoplasmaeiweiß in Verbindung getreten.

Aehnliche Proben wurden nun auch mit Sublimat und Kupfervitriol angestellt, da sich Quecksilber- und Kupfersalze ebenfalls mit Eiweiß verbinden und die Anwesenheit der Metalle durch die schwarze Färbung des Schwefelmetalls nach Einwirkung von Schwefelwasserstoff sich erkennen läßt.

Verf. erhielt intensive Schwärzungen an Protoplasma und Zellkern; bei Spirogyren namentlich an letzterem, da ja hier der Plasmaschlauch ungemein dünn zu sein pflegt und der Zellkern größere Mengen von Eiweiß in sich aufgespeichert enthält.

Es scheint übrigens, daß vom Protoplasmaeiweiß ziemlich schwierig Bleisalz gebunden wird, da doch relativ große Konzentrationen des Bleisalzes nötig sind, um das Plasma zu töten.

In essigsaurem Blei (Bleizucker) von 1:100000 zeigten Spirogyren nach 2 Stunden noch unverändert grüne Farbe und starken Turgor. Sogar nach 4 Tagen waren noch ungefähr zwei Drittel der Zellen am Leben; die lebenden zeigten zum Teil Unordnung in den Chlorophyllbändern, viele derselben aber schienen ganz normal zu sein und das Gift zu überwinden. Aeußerlich war an dieser Algenkultur auffallend, daß sie in kurze Fadenstücke zerfallen war. Neben den Spirogyren fanden sich auch lebende Konferven und andere Algen vor; sogar lebhaft bewegliche Infusorien waren da.

Erstaunlicherweise starb die Kultur bei weiterem Verweilen in der essigsauren Bleilösung nicht ab, befand sich vielmehr nach 6 Tagen noch größtenteils und sogar nach 12 Tagen noch teilweise am Leben.

In Lösung 1:1 Million waren die Algen nach 12 Tagen noch völlig intakt, die Fäden nicht in Stücke zerfallen; es schien keine Zellfunktion

gestört zu sein, auch die Assimilation der Kohlensäure nicht, denn die Fäden waren reichlich mit Stärke angefüllt.

Eisenvitriol ($FeSO_4 + 7H_2O$) ist auch von verhältnismäßig geringer Schädlichkeit.

Nach 24 Stunden waren in Lösung 1:1000 nur ungefähr die Hälfte der Zellen zweifellos getötet; in Lösung 1:10000 kaum der zwanzigste Teil. Die abgestorbenen Zellen wiesen blauschwarzgefärbte Körnchen auf; der im Zellsaft gelöste Gerbstoff hatte sich mit Eiweiß verbunden zu einem Niederschlag, welcher mit dem in Oxydation begriffenen Eisenvitriol die bekannte Gerbstoffreaktion gab. Nach 6 Tagen waren auch die Algen der Lösung 1:10000 nur teilweise unter Kontraktion des Plasmaschlauches und Blauschwarzfärbung abgestorben.

Mit Eiweiß (Albumose) gibt der Eisenvitriol im Reagenzglase keinen Niederschlag.

Aehnlich unempfindlich oder widerstandsfähig zeigten sich die Algen auch gegen Eisenchloridlösung.

Geradezu unglaublich ist aber die Empfindlichkeit gegen Kupfer- und Quecksilbersalze.

In Kupfervitriollösung 1:100000 sterben Spirogyren, Cladophoren, Zygnemen, Konferven etc. binnen wenigen Stunden unter Kontraktion, Trüb- und Bräunlichwerden des Plasmaschlauches ab.

In Lösung 1:1 Million sind binnen 24 Stunden die meisten Algen unter ähnlichen, nur etwas schwächeren Erscheinungen abgestorben. In den noch nicht abgestorbenen zeigt sich Unordnung der Chlorophyllbänder und Ausscheidung zahlreicher Oxalatkriställchen im Plasmaschlauch. Nach weiteren 2 Tagen sind alle Algenfäden abgestorben.

Aehnliches zeigen die Algen in 1:10 Millionen Kupfervitriollösung nach 24 Stunden, nur ist die Zahl der abgestorbenen Fäden eine geringere. Nach 2 Wochen sind die sämtlichen Zellen abgestorben. Eine Unzahl von Infusorien hat sich eingefunden, die also das Gift vertragen.

Auch in Lösung 1:100 Millionen sind nach 24 Stunden schon dieselben Störungen und Absterbeerscheinungen zu bemerken; nur ist die Zahl der veränderten Zellen noch geringer, aber doch immer noch erheblich (ca. 30 Proz.). Nach 3 Wochen zeigte sich aber der Schaden repariert, die Zellen waren wieder normal und sehr stärkereich. Es scheint, daß die Algen in irgend einer Weise mit dem Gift fertig geworden sind, vielleicht durch chemische Bindung an ausgeschiedene organische Stoffe.

Sogar in Lösung 1:1000 Millionen ist an manchen Zellen nach 24 Stunden schon Verschiebung der Chlorophyllbänder und vermehrte Oxalatausscheidung zu bemerken. Nach 3 Wochen sind alle Zellen wieder normal, das Gift war offenbar unschädlich gemacht.

Wie enorm empfindlich sind Spirogyren und andere Algen gegen Kupfervitriol! Wie ist das zu erklären? Vielleicht besteht der ganze Chlorophyllapparat einer Spirogyrenzelle in seinem Plasmateil nur aus einem einzigen Riesenmolekül von aktiven Proteïn, welches durch Anlagerung von einem einzigen oder wenigen Kupferatomen in seiner Funktion gestört wird. Möglicherweise ist es auch bei manchen farblosen Plasmateilen so. Durch spätere Versuche wurde Verf. von dieser Erklärungsweise wieder abgebracht.

Daß die Empfindlichkeit gegen Kupfersalze nicht bei allen Organismen so groß ist, zeigen gewisse Schimmelpilze, welche noch bei Gegenwart von 1 Proz. Kupfervitriol wachsen. Ferner viele Samen der

Phanerogamen, welche durch 0,1 Proz. oder 0,05 Proz. Kupfervitriol nicht am Wachstum verhindert werden (Waschen der Sämereien mit kupfervitriolhaltigen Mischungen).

Die Quecksilbersalze, speziell Sublimat, wirken bei ähnlicher großer Verdünnung noch giftig auf Spirogyren und andere Algen.

Der Grund, warum die Quecksilber- und Kupfersalze noch bei so enormer Verdünnung wirken, wurde in dem Aufsammlungsvermögen der betreffenden Algen für jene Salze gefunden. Das Protoplasmaeiweiß derselben hat offenbar die Fähigkeit noch bei einer Verdünnung, welche chemisch nicht mehr faßbar ist, mit jenen Schwermetallsalzen zu reagieren, während es bei solchen Verdünnungen mit Bleisalzen nicht mehr reagiert, auch nicht mit Eisensalzen. Infolge der Bindung an das Protoplasmaeiweiß kommen immer neue Menge von Quecksilber- oder Kupfersalz in die Zellen hinein, die hochverdünnte Außenlösung wird endlich vollständig von Metallsalz befreit. Infolge der nun erfolgten Ansammlung etwas größerer Mengen der giftigen Metalle in den Zellen tritt schließlich der Tod oder doch eine deutliche Störung ein, die man sich gar nicht erklären kann, wenn die Kupfer- oder Quecksilbervergiftung unversehens (durch Anwendung von destilliertem Wasser mit minimalem Kupfergehalt, unvollständiges Auswaschen der Gefäße etc.) geschehen ist.

In Bezug auf die Wirkung von Hydrochinon und Pyrogallol auf die lebenden Zellen sei hier auf das Original verwiesen.

Ganz anders als die Wirkungen der Schwermetallsalze sind die ebenfalls auffälligen Wirkungen sehr verdünnter Lösungen von Koffeïn, Ammoniak, kohlensaurem Ammoniak, Kali und anderer basischer Stoffe auf lebende Zellen zu verstehen. Sie werden nicht aufgesammelt von dem Protoplasmaeiweiß, darum hat ihre Wirkung auch eine viel tiefer gezogene Grenze. Bei so fabelhaften Verdünnungen wie jene hochgiftigen Schwermetallsalze wirken sie nicht mehr. Ihre Wirkung in 1-proz. Lösung ist meist von total anderer Art als in 0,1 oder 0,01-proz. Lösung. Bei letzteren Verdünnungen treten „Lebensreaktionen“ ein, die nach Entfernung des wirksamen Agens wieder zurückgehen.

Da das Koffeïn sich mit dem Gerbstoff der Algen chemisch verbindet, nimmt man bei Koffeïn besser tierische Objekte zur Beobachtung seiner Wirkung.

Koffeïn ruft, als 5-proz. Lösung angewandt, in Spirogyrenzellen eine eigentümliche Wirkung hervor, die vom Verf. schon früher (Pringsh. Jahrb. Bd. XIX. Heft 2. p. 217) beschrieben wurde; es bilden sich Hohlkugeln im Innern, welche bald mit noch kleineren Kugeln im Innern sich anfüllen (Ausscheidung von gelöstem aktiven Albumin oder zum Teil Niederschlagsmembranen von Koffeïn mit Gerbstoff?).

Bei Einwirkung von 0,1- bezw. 0,01-proz. Koffeïnlösung auf gerbstoffreichen Spirogyren bildet sich ein Gerbstoffniederschlag[1]) im Zellsaft, der wohl auch das gelöst gewesene Albumin enthält und aus kleinen Körnchen besteht; in 0,1-proz. Lösung ist dieser Niederschlag sehr stark und in allen Zellen vorhanden, bei 0,01-proz. entsteht er nur in einigen Zellen und schwach; durch 0,1-proz. Lösung trüben sich die Spirogyrenzellen sofort unter Annahme eines bräunlichen Farbentones und Bildung jener Körnchen. Es scheint, daß die Plasma- und Vakuolenhaut durch diese 0,1-proz. Koffeïnlösung momentan etwas verändert wird, so daß

1) Außerdem bilden sich auch Körnchen im Plasmaschlauch.

sie nun das Koffeïn durchpassieren und zum Zellsaft gelangen läßt, gleichzeitig zeigen sich Proteoformen im Plasma.

Läßt man 0,1-proz. wässerige Koffeïnlösung auf Amöben einwirken, so merkt man bald bei mikroskopischer Beobachtung, daß dieselbe gut ertragen wird; die freie Ortsbewegung und die strömende Bewegung im Innern dauert fort, auch bei tagelanger Einwirkung der Lösung; gleichzeitig anwesende sonstige niedere Tiere, wie Infusorien, ferner niedere Pflanzen, Schwärmsporen von Algen u. s. w. nehmen ebenfalls keinen merklichen Schaden.

Bei längerer Versuchsdauer aber zeigt sich an der lebenden Amöbe eine auffallende Veränderung, indem dieselbe sich nun schärfer von dem umgebenden Wasser abhebt; zahlreiche große Vakuolen treten im Inneren auf, welche durch stark lichtbrechendes Plasma getrennt sind; die Fortsätze (Pseudopodien) werden länger und dünner, die Bewegung ist langsamer und macht den Eindruck, als ob die sich bewegende Masse nicht mehr jenen Grad von Dünnflüssigkeit hätte wie zuvor. All das deutet darauf hin, daß das Plasma in einen dichteren (wasserärmeren) Zustand übergegangen ist. Die Vakuolen sind offenbar durch Wasserausscheidung aus dem Plasma zu stande gekommen, das stärkere Lichtbrechungsvermögen ist eine Folge des größeren Eiweißreichtums und geringeren Wassergehaltes im Plasma.

Ersetzt man die Koffeïnlösung durch reines Wasser, so kann der frühere Zustand der Amöbe wieder hergestellt werden!

Hier haben wir also zu konstatieren, daß scheinbar recht beträchtliche Veränderungen der lebenden Zelle wiederum völlig beseitigt werden können, wenn die Ursache der Veränderung beseitigt wird, Die durch das Gift Koffeïn bewirkte Veränderung der lebenden Zelle ist reparabel, wenn das Gift in nicht zu hoher Konzentration und nicht zu lange einwirkt.

Bringt man das Infusorium Paramaecium in 1 pro Mille Koffeïnlösung, so dauert die Wimperbewegung und freie Ortsbewegung unverändert fort, während die beiden kontraktilen Vakuolen sich vergrößern und allmählich ihre Kontraktionsfähigkeit verlieren; das Plasma nimmt dabei ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen an. Aus der Vakuolenvergrößerung scheint hervorzugehen, daß das lebende Plasma Wasser ausscheidet unter dem Einflusse jenes schwach basischen Stoffes; indem das Plasma hiermit dichter, d. i. wasserärmer wird, nimmt es stärkeres Lichtbrechungsvermögen an. Abgesehen von dem Verlust der Kontraktionsfähigkeit in den Vakuolen, scheint das Infusorium nicht verändert zu werden; es setzt seine Bewegungen tagelang in der Koffeïnlösung unbehindert fort. In manchen findet sich schließlich statt der 2 Vakuolen eine einzige sehr große vor; zugleich nimmt der Infusorienleib dabei oft eine runde Gestalt an. Das Plasma bildet dann eine ziemlich dünne Hülle um die große Vakuole, so daß die noch immer lebhaft bewegliche Zelle ein ganz verändertes Aussehen, fast das einer Pflanzenzelle (mit peripherischem Plasmaschlauch und einer einzigen großen Vakuole, dem „Zellsaft") gewinnt.

Leider ging der betreffende Versuch zu Grunde, als die Koffeïnlösung durch reines Wasser ersetzt werden sollte. Es konnte also nicht festgestellt werden, ob die erwähnten Veränderungen reparabel seien.

Daß auch andere basische Stoffe, z. B. Ammoniak, ähnliche Wirkungen hervorrufen können, wurde vom Verf. schon früher hervorgehoben (Pfl. Arch. Bd. LIX. 1895); nur muß man die Verdünnungen noch größer nehmen.

Einschlägig ist hier ferner auch die „Aggregation", welche zuerst Ch. Darwin an lebenden Drosera-Tentakeln[1]) beobachtete, dann H. de Vries u. a. genau studierten. Sie besteht in einer Ballung des lebenden Zellinhaltes, welche nachher wieder aufgehoben wird, wenn der Reiz aufhört.

Ueber die Ursache der Zusammenballung des lebenden Inhaltes von Drosera-Zellen sagt Darwin, daß fast alle Mittel, welche Einbiegung der Tentakeln verursachen, auch Aggregation bewirken; doch falle die Aggregation nicht völlig mit der Einbiegung der Tentakel zusammen, da die zentralen Tentakel, obwohl sie nicht im geringsten gebogen werden beim Einbringen eines Blattes in eine schwache Lösung von irgend einem Ammoniaksalze doch Aggregation zeigen; die Ballung sei also nicht das direkte Resultat der Einbiegung, auch von der stärkeren Absonderung der Drüsen im gereizten Zustande sei sie unabhängig. Zusammenballung wird nach ihm durch die allerverschiedensten Ursachen erregt: — dadurch daß die Drüsen mehrere Male berührt werden — durch den Druck von Stückchen irgend welcher Art — dadurch, daß die Tentakel dicht unter den Drüsen abgeschnitten werden — durch Aufsaugen verschiedener Flüssigkeiten — durch einen gewissen Grad von Wärme. Das kräftigste Mittel aber, die Zusammenballung zu bewirken, ist nach Darwin die Aufsaugung von kohlensaurem Ammoniak, von dem schon 0,000482 mg genügen, um, durch eine Drüse aufgesaugt, in allen Zellen desselben Tentakels Zusammenballung zu verursachen. Ich kann noch hinzufügen, daß freies Ammoniak nicht minder energisch wirkt. Auch andere Ammoniaksalze, wie salpetersaures Ammoniak, bewirken Aggregation, aber (nach Darwin) bei weitem nicht in dem Maße wie kohlensaures Ammoniak. Schwefelsaures Chinin und Nikotin, ferner zitronensaures Strychnin, sowie das Gift der Cobra veranlassen nach Darwin ebenfalls Aggregation in den Drosera-Tentakeln.

Wenn die Drüse eines Drosera-Tentakels gereizt worden ist, etwa durch Spuren von kohlensaurem Ammoniak, dann bietet derselbe bald nachher ein gänzlich verändertes, von Darwin genau geschildertes Ansehen dar. Die Zellen, anstatt mit homogener Flüssigkeit erfüllt zu sein, enthalten nur verschiedentlich geformte Massen von purpurner Substanz in einer farblosen oder beinahe farblosen Flüssigkeit suspendiert. Die Veränderung ist so augenfällig, daß sie durch eine schwache Lupe sichtbar ist und manchmal sogar mit bloßem Auge; die Tentakeln haben nun ein geflecktes Ansehen, so daß ein in dieser Weise affizierter mit Leichtigkeit von anderen unterschieden werden kann. Dasselbe Resultat erfolgt, wenn die Drüsen auf der Scheibe auf irgend eine Weise gereizt werden, so daß die äußeren Tentakeln gebogen werden; denn ihren Inhalt wird man dann in einem zusammengeballten Zustande finden, obgleich ihre Drüsen noch keinen Gegenstand berührt haben. „Durch welche Ursachen auch der Prozeß nur immer angeregt worden sein mag, er fängt innerhalb der Drüsen an und geht dann die Tentakeln hinunter. Er kann viel deutlicher in den oberen Zellen der Stiele als in den Drüsen

---

1) Mir scheint aber doch ein Zusammenhang zwischen Aggregation einerseits und Biegung der Tentakel sowie Sekretion andererseits zu bestehen, allerdings ein gerade entgegengesetzter zu dem von Darwin geleugneten. Biegung und Sekretion sind wohl Folge, nicht Ursache, der Aggregation. Die zentralen Tentakel biegen sich nicht, weil bei ihnen die Zusammenballung auf allen Seiten gleichmäßig erfolgt, während sie bei den wandständigen infolge einseitigen Eindringens des Reizmittels auf der Oberseite stärker und rascher erfolgt.

beobachtet werden, da diese etwas undurchsichtig sind. Kurz nachdem die Tentakeln sich wieder ausgestreckt haben, werden all die kleinen Massen von Protoplasma wieder aufgelöst, und die purpurne Flüssigkeit in den Zellen wird wieder so homogen und durchsichtig, wie sie vorher war.“ „Die kleinen Massen von zusammengeballter Substanz sind von den allerverschiedensten Formen, oft kugelig oder oval, manchmal sehr verlängert, oder ganz unregelmäßig mit faden- oder halsbandartigen oder keulenförmigen Vorsprüngen. Sie bestehen aus dicker, augenscheinlich zäher Substanz, welche in den äußeren Tentakeln von einer leicht purpurnen und in den kurzen scheibenständigen Tentakeln von einer grünlichen Färbung ist. Diese kleinen Massen verändern unaufhörlich ihre Form und Stellung und ruhen niemals. Eine einzige Masse teilt sich oft in zwei, welche sich nachher wieder vereinigen. Ihre Bewegungen sind ziemlich langsam und gleichen denen der Amöben oder der weißen Blutkörperchen. Wir können daher folgern, daß sie aus Protoplasma bestehen.“ „Der Prozeß der Zusammenballung ist ein lebendiger; ich meine damit, daß der Inhalt der Zellen lebendig und unverletzt sein muß, um in dieser Weise affiziert werden zu können.“ Aus der eingehenden Schilderung Darwins gehen vor allem zwei wichtige Dinge klar hervor: 1) daß die beschriebene Zusammenballung nur in lebenden Zellen auftritt, 2) daß die lebende Zelle die Kraft und das Bestreben hat, jene Zusammenballungen lebendiger Substanz wieder aufzuheben und den früheren Stand der Dinge wieder herzustellen. Bezüglich der Natur der sich ballenden Substanz glaubt Darwin annehmen zu müssen, daß sie ein lebendes Protoplasma sei, welche Meinung zwar nicht vollständig zutreffend, aber doch annähernd richtig sein dürfte.

H. de Vries hat die „Aggregation“ in den Drosera-Tentakeln hinsichtlich des letzten Punktes einer genauen Prüfung unterzogen und faßt seine Resultate dahin zusammen, daß er an der „Aggregation“ drei Phasen unterscheidet: 1) eine beschleunigte und vielfach stärker differenzierte Zirkulation des wandständigen Protoplasma, 2) eine Teilung der Vakuole in mehr oder weniger zahlreiche kleinere, welche dabei alle von einem Teile der ursprünglichen Wand der Vakuole umschlossen bleiben, 3) eine sehr bedeutende Verminderung des Volumens dieser Vakuolen, bei der ein Teil ihrer Masse durch ihre Wand hindurch ausgestoßen wird und sich zwischen dieser und dem zirkulierenden Protoplasma ansammelt. Hinsichtlich der Natur der entstehenden Ballen erfahren wir hieraus also, daß sie Teilprodukte der ursprünglich einzigen Vakuole seien, welche zugleich eine mehr oder minder starke Kontraktion erfahren, so daß das Gesamtvolumen aller Teilvakuolen weit hinter dem der anfänglich einzigen zurückbleiben kann. Da die Vakuolen nach Vries immer mit einer eigenen Wand aus lebendem Protoplasma (dem Tonoplasten) umkleidet sind, welche offenbar bei diesen Vorgängen eine entscheidende Rolle spielt, so stimmt Vries mit Darwin insofern überein, als beide die sich ballende Substanz für lebendes Protoplasma erklären, wobei nur Vries die Ballung auf einen bestimmten Bestandteil des Protoplasma, die Vakuolenwand, zurückführt. Daß die Aggregation nur in lebenden Tentakeln eintritt, ist somit begreiflich.

Nach den Versuchen des Verf. wirkt ebenso wie kohlensaures Ammoniak auch freies Ammoniak — in großer Verdünnung angewandt — auf Drosera-Tentakel; ebenso hochverdünntes Kaliwasser. Also ist der Stickstoffgehalt für die zum Reizen angewandte Substanz nicht so wesentlich, wie Darwin glaubt.

Hingegen scheint die basische Natur des Stoffes wesentlich zu sein. Denn ich konnte mit Koffeïn, Strychnin, Chinin, Antipyrin ebenfalls Aggregation in Drosera-Zellen hervorrufen, stets große Verdünnung vorausgesetzt. Ferner erhielt ich aggregationsähnliche Erscheinungen an verschiedenen Zellen mit kohlensaurem Kali oder Natron, Mono-, Di- und Triäthylamin, Tetraäthylammoniumhydroxyd, Hydrazin, Hydroxylamin, Ortho- und Paratoluidin etc.

Daß die beschriebenen („Aggregations-") Erscheinungen nur bei großer Verdünnung des betreffenden basischen Stoffes (mindestens 0,1 Proz.) auftreten, ist wohl ein Beweis dafür, daß man es hier nicht mit einer gewöhnlichen chemischen Reaktion zu tun habe, sondern mit einer Art Reizwirkung.

Bei Drosera hat Darwin festgestellt, daß auch mechanische Reize (Berührung mit einem festen Körper, Druck . . .), ferner Wärme dieselben Erscheinungen hervorrufen können.

Für die meisten anderen in Betracht kommenden Zellen dürfte aber wohl der chemische Reiz durch Spuren basischer Stoffe das einzige Auslösungsmittel sein.

Rein chemische Einwirkungen von Basen auf Eiweißstoff gibt es ja wohl auch. Es ist längst bekannt, daß die Basen mit Eiweiß Verbindungen bilden, sogenannte Alkalialbuminate, welche beim Kochen nicht gerinnen, durch Neutralisieren gefällt werden etc.

Allein das kommt hier nicht in Betracht, weil die Verdünnung des Reagens zu groß ist und die Reaktion durch Einbringen der betreffenden Zellen in reines Wasser wieder rückgängig gemacht werden kann oder von selbst zurückgeht, und das Plasma bei dem ganzen Vorgang am Leben bleibt. Autoreferat.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bouygues, H., La cuticule et les sels de cuivre. 1. partie. La cuticule fixe-t-elles les sels de cuivre? (Procès-verbaux de la Soc. Linnéenne de Bordeaux. 4 févr. 1903. 15 p.)

Verf. sucht die schon lange aufgestellte Frage zu lösen: Fixiert die Cuticula das Kupfer der Bordelaiser Brühe, wenn dieselbe auf die Blätter des Weinstocks gespritzt wird? Hierzu verwendet er die beiden folgenden Methoden:

1) Die Methode von Millardet und Gayon, die in der Elektrolyse von Cuticulastücken besteht (letztere erhält man durch Einwirkung von Schwefelsäure auf die frischen Weinblätter);

2) die Methode von Devaux, die auf der Eigenschaft beruht, die gewisse Gewebe und besonders die pektinhaltigen Zellwände besitzen, Kupfer festzuhalten. Diese Methode hat den Vorteil, daß sie auf die natürliche Cuticula angewandt wird.

Ein Querschnitt durch ein in eine 10-proz. $CuSO_4$-Lösung getauchtes Organ nimmt, nachdem es gewaschen und mit Ferrocyanür behandelt wird, eine schokoladenbraune Färbung an.

Verf. kommt zu folgenden Schlüssen:

1) Die normale Cuticula (nicht mit H_2SO_4 des Weinblattes) fixiert kein Kupfer in wahrnehmbarer Menge.

2) Dieses Nichtfixieren des Metalls ist unabhängig von der Beschaffenheit der Säure, mit der das Kupfer in der Salzlösung vorverbunden ist.

3) Es folgt daraus mit einer sehr großen Wahrscheinlichkeit, daß die mit Kupfer behandelte Cuticula nicht unangreifbar für die Keimschläuche der Sporen gemacht wird. Houard (Paris).

Mc. Alpine, Black spot of the apple; together with spraying for fungus diseases. (Department of Agriculture. Victoria. Bulletin No. 17. p. 1—32. Melbourne 1904..)

Aus den Berichten über das Auftreten der durch die Fusicladiumformen der Pilze Venturia inaequalis und pirina verursachten Schwarzfleckigkeit der Aepfel und Birnen kann hervorgehoben werden, daß in Australien am meisten folgende Sorten ärger von der Krankheit geschädigt wurden:

1) Aepfel: Ben Davis, Cleopatra or New York Pippin, Dumelows Seedling, Gravenstein, Irish Peach, Munroes Favorite, Newtown Pippin, Pomme de Neige, Ribston Pippin, Scarlet Nonpareil, Stephards Perfection, Stone Pippin, Sturmer Pippin, Yates, Rokewood und Rome Beauty. 2) Birnen: Williams' Bon Chretien, Bosc, Capiaumont, Citron des Carmes, Vicar of Winkfield, Pitmaston, Duchess und Baileys Bergemont. Diesen Sorten stehen als weniger geschädigte folgende gegenüber:

1) Aepfel: Cox' Orange Pippin, Duchess of Oldenburgh, Five Crown, Hoover, Jonathan, Pioneer, Reinette de Canada und Rymer. Statesman. 2) Birnen: Broom Park, Gansels Bergamot, Kieffers Hybrid, Josephine de Malines und Howoll.

Den Beschreibungen der Krankheitserreger, der verursachten Schädigungen und deren Bedingungen reihen sich die der ausgeführten Bespritzungsversuche an, deren Resultate in folgender Zusammensetzung summiert werden:

Die Erfahrungen der Gärtner und die ausgeführten Versuche erwiesen, daß durch die Bespritzung 100 Proz. der Marktfrüchte selbst in einer der Krankheit günstigen Zeit gesichert werden können. Bei der Bespritzung ist die Bordeauxbrühe nach der Formel 6·4·40 (6 Pfd. Kupfervitriol, 4 Pfund Kalk und 40 Gallonen Wasser) zu benützen. Durch Zugabe von Salz, Ammoniaksalz oder Ammoniaksulfat und entsprechende Mischung kann zwar eine größere Haftbarkeit der Flüssigkeit erreicht werden, hingegen erhöhen dieselben die Wirksamkeit der Lösung nicht, falls dieselbe gut zubereitet und zeitgemäß angewendet wird. Es hat sich auch Kupfersoda gut bewährt und kann hier die Zubereitung der Lösung nach der Formel 6·7·50 (6 Pfd. Kupfervitriol, 7 Pfd. Soda und 50 Gallonen Wasser) als beste gelten.

Es wurde weiter erwiesen, daß die richtigste Zeit der ersten Bespritzung dann eintrete, wenn die Knospen sich entfalten und entfärben, und bevor somit die Sporen in die Kelche und Blätter eindringen. Durchschnittlich haben die Sporen einiger Pilze keine Gelegenheit, auf Blättern oder Früchten entsprechend gespritzter Bäume zu keimen und Schädigungen hervorzurufen; andererseits aber erzeugen diese Pilze in nassen Sommern unausgesetzt Sporen und sind somit Früchte und Blätter stets der Gefahr ausgesetzt, wodurch die Notwendigkeit einer, den Erfolg steigernden zweiten Bespritzung sich ergibt. Bleibt bei der ersten zeitgemäßen Bespritzung kein Trieb des Baumes unbespritzt, sichert dieselbe besseren Erfolg, als eine 2—3malige Behandlung in den nässeren Jahren. Indem noch zur allgemeineren Einführung der Bespritzungsarbeiten angeeifert wird, wird nachfolgend auch eine ausführliche Belehrung über die Zubereitung der einzelnen Mittel gegeben.

Der Publikation sind 19 Tafeln eingeschaltet, die sowohl die biologischen und pathologischen Verhältnisse des Pilzes und der hervorgerufenen Krankheit, als auch die Untersuchungsresultate veranschaulichen. Pósch (Grinád).

Cler, Ettore, Apparecchi per prelevare campioni d'acqua per ricerche batteriologiche. (Ingegnere igienista. 1904. No. 22, 23, 24.)

Mag das Ansammeln von Wasserproben zwecks bakteriologischer Prüfung nun einfach nur darauf gerichtet sein, die Anzahl vorhandener Keime in einem bestimmten Volumen Wasser zu berechnen oder aber darauf, Näheres über die Natur der betreffenden Bakterienflora zu erfahren, so ist dies ja sicherlich nicht schwer, solange es sich um oberflächliche, zugängliche oder kanalisierte Wasser handelt, schwieriger aber schon, und oft voller Mißstände in besonderen Fällen, wo es gilt, Wasserproben aus bestimmten und bedeutenden Tiefen oder aus Wassern mit starker Strömung hervorzuholen.

Hierzu genügt nicht die Erfahrung des Experimentierenden, sondern es bedarf da feiner Apparate, die den hauptsächlichen Anforderungen der Analyse genügen, d. h. zur Untersuchung die wirklich in der verlangten Wasserprobe enthaltenen Keime gelangen zu lassen.

Die Zahl der eigens zu diesem Zwecke gebauten Apparate ist sehr bedeutend, und wenn sie einerseits die verhältnismäßig schwierige Lösung des Problems offenbart, so ist sie andererseits gleichzeitig auch ein voller indirekter Beweis für die Bedeutung, die eine solche Nachforschung angenommen hat.

Verf. hat in einem umfangreichen Bericht alle oder fast alle zu diesem Zwecke gebauten Apparate besprochen; seine Arbeit kann also allen jenen von Nutzen sein, die diesem schwierigen technischen Teil zu Leibe gehen müssen. Bertarelli (Turin).

Ewert, Der wechselnde Einfluß des Lichtes und der Kupferkalkbrühen auf den Stoffwechsel der Pflanzen. (Thiels Jahrbücher. Bd. XXXIV. 1905. Heft 2.)

Verf. kommt in seiner Arbeit, welche, da etwas über den Rahmen der vorliegenden Zeitschrift hinausliegend, nur ganz kurz besprochen sei, auf Grund seiner Untersuchungen durch Vegetations- und Atmungsversuche zu dem Ergebnis, daß die Bedeutung der Kupferkalkbrühen nur in der Bekämpfung der parasitischen Pilze liegen kann, also in ihrer Wirkung als Pilzgift, so lange wir kein zweckdienlicheres kennen. Bezüglich ihrer pilzschädigenden Eigenschaften kann allerdings wahrscheinlich auch die Schattenwirkung der Bordeauxbrühe mit in Frage kommen. Eine Begünstigung des Pflanzenlebens durch die Kupferkalkbrühen findet auf keinen Fall statt, eine Kräftigung der Pflanzen durch sie ist nicht denkbar.

Verf. empfiehlt endlich, zur Bekämpfung bezw. Vorbeugung von Pilzkrankheiten bei oftmaliger Bespritzung nur eine $^1/_2$-proz., bei einmaliger Bespritzung höchstens eine 1-proz. Kupferkalkbrühe zu gebrauchen. Die Anwendung einer 4-proz. Brühe, zumal für den Weinbau, kann besonders wegen der Schattenwirkung geradezu verhängnisvoll werden. Paul Ehrenberg (Breslau).

Bolle, Johann, Die Desinfektion von wurmstichigen Holzarten mittels Schwefelkohlenstoff. (Zeitschrift für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1905. p. 259.)

Dieses Mittel hat sich gegen die verschiedenen Holzbohrerspecies in ausgezeichneter Weise bewährt, so daß es infolge der Billigkeit, leichten Anwendbarkeit und Sicherheit allgemeine Anwendung verdient. Schon 10 g Schwefelkohlenstoff in 1 cbm zeigen sich bei 15-tägiger Einwirkungsdauer wirksam, bei Anwendung von 50 g Schwefelkohlenstoff in 1 cbm und 4-tägiger Einwirkungsdauer ist aber die Desinfektion eine vollständige. Die Wirkung ist bei Nadel- und Laubholz die gleiche, wie auch die Dicke des Holzes die Wirkung des Schwefelkohlenstoffes nicht beeinträchtigt. Die zweckmäßigste Methode der Desinfektion besteht darin, daß man die Hölzer in einen Blechkasten unter hydraulischen Verschluß stellt, wo sie während 4 Tagen den Dämpfen des Schwefelkohlenstoffes ausgesetzt bleiben; letzteren läßt man aus einer offenen Schale verdunsten, welche man im Kasten einige Centimeter unter dem Deckel aufstellt. Gefirniste und lackierte Holzarten erleiden durch den Schwefelkohlenstoff keinerlei Einbuße in Bezug auf Farbe, Aussehen, Glanz u. dergl. Schwefelkohlenstoffdämpfe entwickeln bei Anwesenheit von Luftfeuchtigkeit Schwefelwasserstoff, dessen Einwirkung man dadurch verhindert, daß man die Luftfeuchtigkeit im Desinfektionskasten durch Kohlensäure (entwickelt durch gewöhnliche Kohlensäureflaschen) verdrängt. Auf diese Weise können Holzobjekte mit farbigem oder metallenem Ueberzug gefahrlos desinfiziert werden. Desinfiziertes Holz besitzt jahrelang einen charakteristischen Geruch, der jedenfalls Insekten abhalten muß.

Stift (Wien).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Bibliothekar der Königl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines.

Busse, W., Reisebericht 2 der pflanzenpathologischen Expedition des Kolonial-wirtschaftlichen Komitees nach Westafrika. (Tropenpflanzer. Jg. IX. 1905. N. 4. p. 169—184. 2 Fig.)

Marchal, Ém., Rapport sur les observations effectuées par la service phytopathologiqne de l'institut agricole de l'état en 1904. Bruxelles. (Bull. de l'agric. T. XXI. 1905. Livr. 1. p. 73—84.)

Poskin, Rapport sur les observations effectuées par le service entomologique de l'institut agricole de l'état en 1904. Bruxelles. (Bull. de l'agric. T. XXI. 1905. Livr. 1. p. 60—72.)

Sorauer, Paul, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. vollst. neubearb. Aufl. in Gemeinschaft mit G. Lindau u. L. Reh herausgegeb. v. P. Sorauer. (In 16—18 Lief.) Lief. 1 u. 2. (Bd. I. p. 1—112. u. Bd. II. p. 1—96) Berlin (Parey) 1905. 8°. Mit Fig. Je 3 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Berghaus, Der „Vakuumreiniger", ein Apparat zur staubfreien Reinigung der Wohnräume. (Arch. f. Hyg. Bd. LIII. Heft 1. p. 67—77. 5 Fig.)

Berner, O., En anaërob platekulturskaal. (Norsk Mag. for Lägevid. 1904. p. 823.)

Einrichtung zum Befüllen, Sterilisieren und Verschließen von Gefäßen für pasteurisiertes Bier oder dergleichen. (Zeitschr. f. d. ges. Kohlensäure-Ind. Jg. XI. 1905. N. 8. p. 251—252. 3 Fig.)

Dreuw, Zur Züchtung anaërober Bakterien. (5. internat. Dermatol.-Kongr. Berlin 1904. Verh. u. Ber. Bd. II. T. 2/3. Berlin 1905. p. 411—412, 1 Fig.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bentley, Charles A., Preliminary note upon a leucocytozoan of the dog. (British med. Journ. 1905. N. 2314. p. 988—989. 2 Fig.)

Boycott, A. E., The seasonal prevalence of Hoffmanns Bacillus. (Journ. of hygiène. Vol. V. 1905. N. 2. p. 223—232. 2 Fig.)
Chauzit, B., Les insectes de la vigne. (Rev. de viticulte. Anné XII. T. XXIII. 1905. N. 592. p. 442—443.)
Caullery, M. et **Mesnil, F.**, Sur des haplosporidies parasites de poissons marins. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 14. p. 640—642.)
Cobb, N. A., The tape worms of Australia. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. XVI. 1905. P. 2. p. 153—168. 3 Fig.; P. 3. p. 209—219. 16 Fig.)
Corti, Alfredo, Eriofidi nuovi o poco noti. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1905. N. 23. p. 766 —773. 2 Fig.)
Cropper, J., Note on a form of malarial parasite found in and around Jerusalem. (Journ. of trop. med. Vol. VIII. 1905. N. 9. p. 132—133. 1 Fig.)
Dutton, J. Everett, The intermediary host of Filaria cypseli, the Filaria of the African swift Cypselus affinis. (Thompson Yates and Johnston Lab. Rep. T. IV. 1905. p. 137 —147. 1 Taf.)
Fuchs, Gilbert, Beschreibung der Larve des Otiorrhynchus sensitivus Scop. syn. planatus Herbst. (Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 5. p. 210—212.)
Gabotto, L., Contribuzione alla flora micologica Pedemontana. (Nuovo Giorn. bot. Ital. N. Ser. Vol. XII. 1905. N. 1. p. 53—77.)
Hilfreich, Läuse, Lausfliegen, Vogelmilben und Zecken auf der Haut der Haustiere. (Der Landwirtschaftsbeamte. Jg. XIII. 1905. N. 4. p. 25—26.)
Hollrung, M., Einige Bemerkungen über die Rübenblattminierfliege (Anthomyia conformis), sowie die Trockenfäule (Schorfigkeit) der Zuckerrüben. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn. Zucker-Ind. Lief. 591. 1905. p. 407—413. 1 Fig.)
Krassilstschik, J., Sur une affection parasitaire des Lépidoptères produite par un sporozoaire nouveau (Mikroklossia prima). (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 14. p. 656—657.)
Mac Dougall, R. Stewart, The bulb mite (Rhizoglyphus echinopus). (Journ. of the Board of agricult. Vol. XI. 1905. N. 12. p. 748—750. 2 Fig.)
Mesnil, Félix, Chromidies et questions connexes. (Bull. de l'inst. Pasteur. Année III. 1905. N. 8. p. 313—322. 7 Fig.)
Petrie, G. F., Observations relating to the structure and geographical distribution of certain trypanosomes. (Journ. of hygiene. Vol. V. 1905. N. 2. p. 191—200. 1 Taf.)
Quintaret, G., Note sur une Cercaire parasite du Barleeia rabra (Adams). (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 15. p. 724—725.)
Railliet, A. et **Henry, A.**, Encore un nouveau Sclérostomien (Oesophagostomum Brumpti n. sp.). (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 14. p. 643—645.)
Sander, L., Die Tsetsen (Glossinae Wiedemann). (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. IX. 1905. N. 5. p. 193—218. 1 Taf. u. 25 Fig.)
Sawamura, S., On the large bacillus observed in flacherie. (Bull. of the Coll. of Agric. Tokyo. Vol. VI. 1905. N. 4. p. 375—386. 1 Taf.)
Schiffner, V., Beobachtungen über Nematoden-Gallen bei Laubmoosen. (Hedwigia. Bd. XLIV. 1905. Heft 4. p. 218—222.)
Sergent, Edmond et **Etienne**, Hématozoaires de Rana esculenta en Algérie. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 14. p. 671—672. 4 Fig.)
— —, Sur des embryons de Filaire dans le sang du dromadaire. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 14. p. 672—673.)
— —, Sur un Culicide nouveau, très commun à Biskra (Grabhamia subtilis). (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 14. p. 673—674.)
Stafford, J., Trematodes from Canadian Vertebrates. (Zool. Anz. Bd. XXVIII. 1905. N. 21/22. p. 681—694.)
v. Stenitzer, Richard, Ueber Trypanosomen. (Wiener med. Wchnschr. Jg. LV. 1905. N. 18. p. 873—877; N. 19. p. 942—945.)
Takahashi, T., Some new varieties of Mycoderma yeast. (Bull. of the Coll. of Agric. Tokyo. Vol. VI. 1905. N. 4. p. 387—402. 2 Taf.)
Turner, Sir **Wm.**, On Pennella: a Crustacean parasitic on the Finner Whale (Balaenoptera musculus). (Abstract.) (Proc. Roy. Soc. Edin. Vol. XXV. 1905. p. 480.)
Vanderyst, H., Notes sur le Puccinia polygoni amphibii (Pers.) et l'Aecidium sanguinolentum Lindr. (Rev. Gén. Agron. Louvain 1904. 4 p.)
Vassal, J. J., Sur un hématozoaire endoglobulaire nouveau d'un mammifère. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 4. p. 224—232.)
Ziemann, Hans, Nachtrag zum Beitrag zur Trypanosomenfrage. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 6. p. 662.)

Biologie (Gärung, Fäulnis, Stoffwechselprodukte etc.).

Bacteria and the Nitrogen-problem. (West Indian Bull. Journ. of the Imp. Agric. Dep. for the West Indies. Vol. V. Barbados 1904. N. 3.)

Clark, H. W. and **Gage, Stephen de M.**, The functions of various types of bacteria in the purification of sewage, with some methods for their quantitative determination. (Engineering. Vol. LIII. 1905. N. 2. p. 27—31.)

Einfluß der Kohlensäure auf die Bakterien des Wassers. [Schluß.] (Ztschr. f. d. ges. Kohlensäure-Ind. Jg. XI. 1905. N. 8. p. 249—251.)

Christman, A. H., Sexual reproduction in the rusts. (Bot. Gaz. Vol. XXXIX. 1905. N. 4. p. 267—275. 1 Taf.)

Gage, Stephen De M., Contribution to the biochemistry of Sewage purification; the bacteriolysis of peptones and nitrates. (Journ. of American chem. soc. Vol. XXVII. 1905. N. 4. p. 327—363.)

Gibson, C. M., Notes on infection experiments with various Uredineae. (New Phytol. 3. 1904. p. 184—191. 2 Taf.)

Heyrovský, J., Ein Beitrag zur Biologie und Agglutination des Diplococcus pneumoniae. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. Heft 6. p. 704—713.)

Hiltner, L., Ueber Gründüngung und Impfung im Walde. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 4. p. 176—187. 1 Fig.)

Jalowetz, Eduard, Die Isomaltose. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikation. Jg. XXXIII. 1905. N. 17. p. 183—184. [5. Jahrb. d. Ver. d. Brauereibranche. 1905.])

Malenković, Basilius, Das Keimfreimachen der Gerste und dessen Bedeutung für die Bierbrauerei. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 17. p. 184—188. [5. Jahrb. d. Ver. d. Brauereibranche. 1905.])

Plowright, Ch. B., The vegetative life of the rust fungi of cereals. (Garden. Chron. XXXVI. 1904. p. 403. Mit Fig.)

Schmid, Hans H., Zur Kenntnis der Hefegärung. (Ztschr. f. exper. Pathol. u. Therap. Bd. I. 1905. Heft 3. p. 551—556.)

Stockmann, Joseph, Ueber den Einfluß sporentragender Stäbchen auf die Säurebildung in Mischungen von Mehl und Wasser. Diss. med. Würzburg, 1905. 8°.

Thömsgen, W., Ueber Pflanzengifte in den Unkräutern und Bekämpfung der letzteren. (Fühlings landw. Ztg. Jg. LIV. 1905. Heft 9. p. 297—303.)

Tubeuf, Auftreten der Thelephora laciniata im Elsaß. (Naturw. Ztschr. f. Land- u. Forstwirtsch. Jg. III. 1905. Heft 4. p. 187—189. 3 Fig.)

Wehmer, C., Unabhängigkeit der Mucorineengärung von Sauerstoffabschluß und Kugelhefe. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Jg. XXIII. 1905. Heft 3. p. 122—125.)

Will, H., Ueber Schwefelwasserstoffbildung durch Hefe. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. XXVIII. 1905. N. 18. p. 285—287.)

Windisch, W., Warum keimt die getrocknete bezw. abgelagerte Gerste besser als die frisch geerntete? (Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. 1905. N. 17. p. 170—171.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur belebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Beythien, A., Ueber ein Vorkommen von Eisenbakterien in Leitungswasser. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. IX. 1905. Heft 9. p. 529—531.)

Belli, C. M., Production, conservation et distribution de l'eau douce à bord du Croiseur italien Varèse. (Arch. de méd. navale. T. LXXXIII. 1905. N. 2. p. 123—132.)

Christophers, S. R., Note on some experiments with Copper Sulphate in relation to disinfection of water. (Indian med. Gaz. Vol. XL. 1905. N. 4. p. 128—130.)

Greslebin, Alberto, Nuevo modelo de perforador para examen bacteriológico del suelo. (2. Congr. méd. latino-americano Actas y trabajos. T. II. Buenos Aires 1904. p. 185—193. 3 Fig.)

Trillat, A. et **Turchet**, Étude sur un nouveau procédé de recherche de l'ammoniaque et des sels ammoniacaux applicable à la caractérisation des eaux potables. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 4. p. 259—265.)

Vincent, M. H., Sur la signification du „Bacillus coli“ dans les eaux potables. (Ann. de l'inst. Pasteur. Année XIX. 1905. N. 4. p. 233—248.)

Fleisch.

Kob, M., Beitrag zur Kenntnis des Botulismus. (Med. Klinik. Jg. I. 1905. N. 4. p. 84—86.)

Milch, Molkerei.

Behandlung der Milch nach dem Pasteurisieren. (Milch-Ztg. Jg. XXXIV. 1905. N. 16. p. 190.)

Mc Cleary, G. F., Municipal milk depots aad milk sterilisation. (Journ. of the R. sanitary Instit. Vol. XXVI. 1905. N. 4. p. 224—229.)

Nicolas, B., Sur la recherche du formol dans le lait. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. N. 15. p. 697—698.)
Peter, A., Technisch-bakteriologische Versuche in der Emmentalerkäserei. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Jg. XIX. 1905. Heft 3. p. 171—181.)

Bier, Brauerei.

Große Gärbottiche. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrik. Jg. XXXIII. 1905. N. 19. p. 205—209. [Oesterr. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1905.])
O. W., Sterilisierung und Veredlung von Bier, Wein und Spirituosen. (Oesterr. landw Wchnbl. Jg. XXXI. 1905. N. 15. p. 120.)

Wein, Weinbereitung.

Saillard, Emil, Die Herstellung des Apfelweins und seine Verzuckerung. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn. Zucker-Ind. Lief. 591. 1905. p. 448—460.)
Ueber das Ozonisieren des Weines mittels Elektrizität. (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 16. p. 184.)
Windisch, Karl, Ueber die Herstellung von Branntwein aus Birnen. (Obstgarten 1905. N. 4. p. 56—59. [Ztschr. f. Spiritusind. Jg. XXVIII. N. 9.])

Wohnungen, Abfallstoffe, Desinfektion etc.

Jacobson, J., Ueber Melioform, ein neues Desinfektionsmittel. (Med. Klinik. Jg. I. 1905. N. 15. p. 361—364.)
Kolle, W., Einige Betrachtungen über die bakteriologische Untersuchung der Faeces. (Med. Klinik. Jg. I. 1905. N. 12. p. 278—281.)
Rodet, A., Experiences sur la valeur antiseptique du savon commun. Remarques sur l'action des antiseptiques en général et sur la biologie du staphylocoque. (Rev. d'hyg. et de police sanit. T. XXVII. 1905. N. 4. p. 301—320.)
Savage, William G., Bacteriological examination of tidal mud as an index of pollution of the river. (Journ. of hygiene. Vol. V. 1905. N. 2. p. 146—174. 1 Fig.)
Trillat, A., Sur les propriétés antiseptiques de certaines fumées et sur leur utilisation. (Compt. rend. Acad. Sc. T. CXL. 1905. N. 12. p. 797—799.)

Andere Nahrungsstoffe.

Gurkenanbau- und Konservierungsversuch. (Konserven-Ztg. Jg. 1905. N. 17. p. 185—186.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

A bacterial Rot of onions. (West Indian. Bull. Vol. V. 1904. p. 134—139.)
Benson, A. H., Some vine disease. (Queensland Agric. Journ. Vol. XV. 1904. p. 485—490.)
Cocumber disease or spot. (Garden. Chron. XXXVI. 1904. p. 438—439.)
Die Verbreitung der Reblaus in Italien. (Weinlaube. Jg. XXXVII. 1905. N. 17. p. 197.
Funaro, A. e **Borboni, J.**, Sulla lecitina del vino. Staz. Sperim. Agric. Ital. Vol. XXXVI. 1904. p. 881—897.)
Giustiniani, E., Ricerche sulla reproduzione delle barbutietole da zucchero. (Staz. Sperim. Agr. Ital. Vol. XXXVII. 1904. p. 849—881.)
Hume, H. H., Anthracnose of the Pomelo. (Bull. Agr. Exp. Stat. Jacksonville Fl. 1904. 12 p. 4 Taf.)
Kobus, J. D., Vergeliijkende proeven omtrent Gele-Strepenziekte. (Arch. Java-Suiker-Ind. 1904. p. 417—429.)
Massee, G., Discovery of fruit of apple mildew in England. (Garden. Chron. Vol. XXXVI. 1904. p. 349.)
Mattei, G. E., Ancora sulla pretesa galla insettivora. (Bull. Ort. Bot. Napoli. Vol. II. 1904. p. 107—108.)
Montemartini, L., Note di fisiopatologia vegetale. (Atti ist. Bot. Pavia. Ser. 2. T. IX. 1904. 63 p.)
Mosseri, V., Le pourridié du cotonnier. Immunité et seléction chez les plantes spécialement chez le cotonnier et le banania. (Bull. Ist. Egypt. Sér. 4. T. IV. 1904. p. 493—512. 2 Taf.)
Osterwalder, A., Ueber eine bisher unbekannte Art der Kernobstfäule. (Mitt. Thurg. Naturf. Ges. Jg. XVI. 1904. Festschrift. p. 104—124. 2 Taf.)
Pirazzoli, F., Mala della bolla e del mosaico. (Boll. Tecn. Colt. Tabacchi. Anno III. 1904. N. 4.)
v. Schwerin, Fr., Pathologische Beobachtungen an Gehölzen. (Mitt. Dtschr. Dentrol. Ges. 1904. p. 107—114.)

Some disease of potato. (Queensland Agric. Journ. Voi. XV. 1904. p. 605—607.)
Tavares, J. S., Descripcão de tres cecidomyias hespanholas novas. (Broteria. III. 19.. p. 293—297.)
Trabut, L., Le Coryneum, maladie des arbres à noyaux. (Rev. Hortic. Algér. T. VII. 1904. p. 166—169. Mit Fig.)
v. Tubeuf, C., Ueber die Verbreitung von Baumkrankheiten beim Pflanzenhandel. (Mi Dtschr. Dendrol. Ges. 1904. p. 156—163. Mit Fig.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Cercelet, M., Les traitements de l'Oidium. (Rev. de viticult. Année XII. T. XXII. 1905. N. 592. p. 443—445.)
—, Traitements de l'Anthracnose. (Rev. de viticult. Année XII. 1905. N. 593. p. 478—47.)
Die Bekämpfung der Apfelblüten- und Birnknospenstecher. (Thüringer landw. Ztg. Jg. XLI. 1905. N. 16. p. 124—125.)
Krasser, Fridolin, Ueber die Bekämpfung der Obstmade resp. der Carpocapsa pomonar mit Arsenpräparaten, insbesondere Schweinfurtergrün. (Obstgarten. 1905. N. 3. p. 3. —38.)
Prunet, A., Traitement du black rot. (Rev. de viticult. Année XII. 1905. N. 593. p. 4. —464.)
Zacharewicz, Ed., Traitements combinés contre les maladies cryptogamiques de la vign (Rev. de viticult. Année XII. 1905. N. 593. p. 476—478.)

Inhalt.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. Aderhold in Berlin, Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Delbrück in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wadensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Prof. Dr. Samuel C. Prescott in Boston, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Van Laer in Gand, Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 50, Schaperstr. 2/3 I.

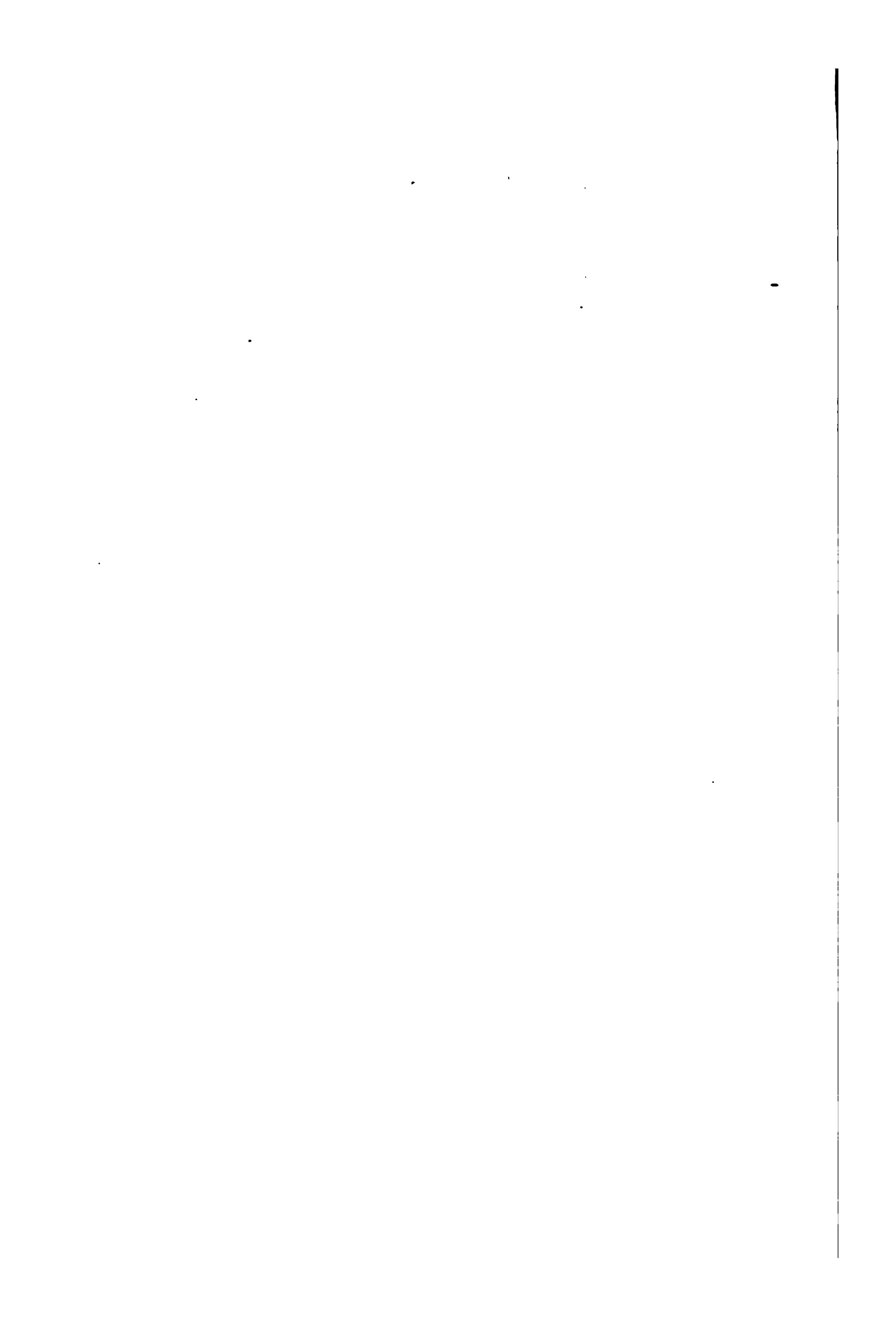
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

XIV. Bd. — Jena, den 29. Juli 1905. — No. 25.

Inseratenannahme durch die Verlagshandlung.



Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 25.

Ueber eine neue Art farbloser Thiospirillen.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. S. Winogradsky im kaiserl. Institut für experimentelle Medizin in St. Petersburg.]

Von **W. Omelianski.**

Mit 1 Tafel.

In vorliegender Notiz will ich eine neue Species von Schwefelbakterien beschreiben und einige Beobachtungen über dieselbe wiedergeben. Die Ursachen, welche mich bewogen haben, die untenstehenden lückenhaften Angaben über diese Form zu veröffentlichen, sind folgende: 1) Die von mir entdeckten Schwefelbakterien gehören zur Gruppe der farblosen, nicht fadenbildenden Schwefelbakterien, d. h. zu einer Gruppe, welche fürs erste noch sehr wenige Repräsentanten aufweist und deshalb vom Standpunkte der Systematik[1]) einiges Interesse bietet. 2) Die von mir angelegte Kultur, welche ich später zu genaueren Untersuchungen verwenden wollte, ist mir jetzt durch Zufall abhanden gekommen, weshalb ich meine Beobachtungen nicht weiter fortsetzen kann.

Das zu beschreibende Schwefelbakterium hatte sich in einem hohen Cylinder (von ca. 40 cm Höhe und 7 cm Breite), in welchem sich unter einer Flüssigkeitsschicht mit Gips vermengter Limanschlamm und eine geringe Menge von pflanzlichen Ueberresten (Rhizomstückchen) befanden, entwickelt. Der Cylinder war bis zum Rande mit Wasserleitungswasser gefüllt worden und stand bei Zimmertemperatur an einem leicht beschatteten Orte. Nach einigen Monaten gewahrte ich im unteren Drittel des Gefäßes eine aus Schwefelbakterien bestehende Platte. Diese letztere änderte in Abhängigkeit von dem Schwefelwasserstoffgehalte in den verschiedenen Flüssigkeitsschichten, vielleicht aber auch aus anderen Ursachen ihre Lage im Cylinder und strebte augenfällig zu Boden. Sobald sie die Schlammschicht erreichte, wurde sie unsichtbar, jedoch konnte die Anwesenheit von Schwefelbakterien im Schlamme mit Leichtigkeit unter dem Mikroskop nachgewiesen werden. Um die Schwefelbakterien wieder in der Flüssigkeit erscheinen zu lassen, brauchte ich den Inhalt des Gefäßes mitsamt dem Schlamme nur gründlich mit einem Glasstabe umzurühren. Schon am folgenden Tage, sobald der die Flüssigkeit trübende Schlamm wieder zu Boden gefallen war und die Flüssigkeit sich geklärt hatte, bildete sich in dieser wiederum eine Schwefelbakterienplatte, welche auch allmählich wieder zu Boden sank. Ich wiederholte dieses viele Male und fast stets mit demselben Ergebnis. Die unter den erwähnten Bedingungen gezüchtete Kultur verliert mit der Zeit an Lebensfähigkeit, trotzdem der Schwefelwasserstoffgehalt in dem unteren Teile des Cylinders ein bedeutender bleibt. Dieses ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, daß sich in der Flüssigkeit das Wachstum der Schwefelbakterien schädlich beeinflussende Zersetzungsprodukte des Schlammes und der pflanzlichen Ueberreste ansammeln. In diesem Falle ist es von Nutzen, sämtliche Flüssigkeit vorsichtig wegzugießen, ohne den Schlamm aufzuwühlen, und sie dann durch frisches Wasserleitungswasser zu ersetzen. Unter diesen Bedin-

1) Siehe Handbuch d. techn. Mykol. Bd. III. p. 230.

gungen konnte ich eine Kultur von Schwefelbakterien während etwa 2 Jahren lebensfähig erhalten. Dieselbe starb unter folgenden Verhältnissen ab: Als ich bemerkte, daß der Schwefelwasserstoffgehalt im Cylinder bedeutend abgenommen hatte, und daß ein Zusatz von Gips diesem Uebelstande nicht Abhilfe schaffte, setzte ich voraus, daß der Grund hierfür in der Verminderung der Reduktionsprozesse im Schlamme infolge des verminderten Gehaltes an sich langsam zersetzenden organischen Stoffen zu suchen sei. Da mir keine Butomus-Rhizome, deren Zusatz von S. Winogradsky empfohlen wird, zur Verfügung standen, entschloß ich mich, sie durch eine geringe Menge Filtrierpapier, dessen Zersetzung sehr langsam vor sich geht, zu ersetzen. Meine im Laufe der ersten 2—3 Wochen nach Zusatz von Filtrierpapier angestellten Beobachtungen berechtigten mich anscheinend dazu, diese Wahl als eine überaus treffende anzusehen: Der von der Flüssigkeit ausgehende Schwefelwasserstoffgeruch nahm bedeutend an Intensität zu und zugleich wurde auch das Wachstum der Schwefelbakterien ein bedeutend üppigeres. Jedoch war dieser Erfolg nur ein temporärer. Die Papierzersetzung nahm einen allzu energischen Verlauf, wobei sich sichtbare Gasausscheidung einstellte, in der Flüssigkeit sammelten sich augenscheinlich schädliche Zersetzungsprodukte der Cellulose an und die Kultur ging bald zu Grunde. Ich habe absichtlich diesen Zufall genauer beschrieben, um zu zeigen, wie vorsichtig man bei der Kultur dieser gegen äußere Lebensbedingungen so sehr empfindlichen Organismen und bei der Wahl von Mitteln zur Förderung ihrer Existenz sein muß. Der Zusatz von Papier zum Schlamme würde vielleicht nur von Nutzen sein, wenn man nur sehr geringe Quantitäten und nach Verlauf bedeutender Zeitabschnitte, im Laufe welcher die Flüssigkeit durch neue ersetzt würde, hinzusetzen wollte.

Das von mir beobachtete Schwefelbakterium, welches ich zu Ehren meines teuren Lehrers, mit dessen Namen die Lehre von den Schwefelbakterien in innigem Zusammenhange steht, als Thiospirillum Winogradskii bezeichnen will, stellt ein großes farbloses oder fast farbloses und nur kaum braungrün gefärbtes Spirillum dar, welches sehr lebhafte Eigenbewegung zeigt. Saugt man mit der Pipette im Niveau der Schwefelbakterienschicht etwas Flüssigkeit auf und untersucht man einen Tropfen derselben auf dem Objektträger, so erweist sich der Bakteriengehalt derselben als ein sehr bedeutender, was aus Photogramm I, welches ein ungefärbtes Präparat bei 150-facher Vergrößerung darstellt, deutlich ersichtlich ist. Die dunkle Färbung des Thiospirillums hängt von der starken Lichtbrechung durch Schwefeltröpfchen, mit welchen die Bakterienleiber strotzend angefüllt sind, ab. Die Spirillen bewegen sich fortwährend sehr lebhaft, sie durchbohren gleichsam die Flüssigkeit, indem sie sich zugleich vorwärts bewegen (Schraubenbewegung), und bilden nur selten mehr als zwei Windungen. Zu Anfang sind die Thiospirillen ziemlich gleichmäßig in Tropfen verteilt, mit der Zeit aber sammeln sie sich am Tropfenrande an und sterben hier allmählich ab. Hierbei kann man häufig folgende Erscheinungen beobachten: Ein am Tropfenrande gelagertes und anscheinend endgültig abgestorbenes Spirillum beginnt plötzlich, nachdem es lange Zeit (zuweilen $^1/_4$ Stunde und mehr) bewegungslos dagelegen hat, sich lebhaft zu bewegen, gleichsam als ob es aus seinem Erstarrungszustande erwacht ist; hierbei verläßt es jedoch den Randteil des Tropfens nicht, sondern verbleibt in demselben, bis es endgültig zu Grunde geht. Mor-

phologische Beobachtungen an lebendigen Spirillen können am bequemsten eben hier, am Tropfenrande, vorgenommen werden, da die energischen Bewegungen der Spirillen daselbst an Intensität bedeutend abnehmen und man selbst bei starker Vergrößerung die Bewegung der Cilien verfolgen kann. Die letztgenannten Beobachtungen werden in bedeutendem Maße dadurch erleichtert, daß sich am Tropfenrande Unmassen von Mikroben, welche das Thiospirillum mit seinen Cilien fortwährend beiseite schleudert, ansammeln. Auf Phot. II sieht man ein in ungefärbtem Zustande bei 1000-facher Vergrößerung aufgenommenes Thiospirillum Winogr. An dem im Brennpunkte des Präparates befindlichen Ende des Bakteriums gewahrt man ganz deutlich eine etwas zur Seite gebogene Cilie, welche vielleicht aus mehreren aneinanderklebenden Cilien besteht. Leider konnte ich bis jetzt keine Cilienfärbung vornehmen und kann daher nicht mit Bestimmtheit entscheiden, ob das Thiospirillum nur an einem oder an beiden Körperenden Cilien — und wie viel davon — trägt. Für die zweite Annahme spricht jedoch der Umstand, daß das Thiospirillum sich in entgegengesetzten Richtungen fortbewegen kann.

Der Querdurchmesser des Thiospirillum Winogr. beträgt ca. 3 μ. Seine Länge schwankt in sehr weiten Grenzen und beträgt bis zu 50 μ. Der Leib des Mikroben ist gewöhnlich mit stark lichtbrechenden Schwefeltröpfchen von verschiedener Größe strotzend angefüllt. Auf der erwähnten Abbild. (Phot. II) enthalten die Thiospirillen eine mäßige Menge Schwefel. In betreff der das Bakterienprotoplasma durchsetzenden Schwefeltropfen, ihres physikalischen Zustandes, ihrer Kristallbildung u. s. w. kann ich nichts Neues zu dem hinzufügen, was S. Winogradsky bei den Schwefelbakterien so genau beschrieben und was wohl vor kurzem Andrea Corsini[1]) wiederholt hat.

Es erübrigt nur noch die Frage, ob das Thiospirilum Winogradskii als besondere Art anzusehen ist oder nicht, kurz zu besprechen. Fast alle bis jetzt bekannten Spirillen aus der Klasse der Schwefelbakterien gehören zu der Familie der roten Schwefelbakterien (Rhodobacteriaceae Mig.) und bilden die Gattung Thiospirillum[2]). Augenscheinlich müssen wir jedoch diese Gattung in der Weise erweitern, daß wir in dieselbe auch ungefärbte oder nicht mit Bacteriopurpurin gefärbte Thiospirillen einreihen. Dieses tue ich denn auch, indem ich der eben beschriebenen Form, welche sicherlich nicht zu den Purpurbakterien gehört, den Gattungsnamen Thiospirillum zueigne. Daß es sich in der Tat nicht um ein Purpurbakterium handelt, ersieht man daraus, daß weder bei Betrachtung mit dem Mikroskop die einzelnen Bakterienleiber rote Färbung zeigen, noch auch die Kulturen der Spirillen überhaupt gefärbt sind. Die Bakterienplatte des Thiospirillum Winogr. erscheint als weißgrauliche Trübung, welche durchaus keine Rotfärbung gewahren läßt und ganz unsichtbar wird, sobald sie die Limanschlammschicht am Boden des Cylinders erreicht. Ich hatte Gelegenheit, gleichzeitig in einem anderen ebensolchen Cylinder eine aus Chromatium Okenii bestehende Bakterienlamelle zu beobachten. Sie zeigte deutliche rotviolette Färbung und bildete, nachdem sie zu Boden gesunken war, an der Oberfläche des Limanschlammes eine hübsche, sammetartig schimmernde, rotviolette Membran, ein Gebilde,

1) Corsini, A., Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 272.
2) Migula, W., System d. Bakterien. Bd. II. p. 1043.

welches für Ansammlungen von Purpurbakterien in der Natur so überaus charakteristisch ist.

Was die übrigen farblosen Spirillen, welche nach Angaben der Autoren gleichfalls Schwefelpartikel enthalten, anbetrifft, so ist hier ein Vergleich sehr erschwert, da die Beschreibungen, welche den ersten, auf diesem Gebiete tätigen Forschern (Ehrenberg, Cohn) angehören, sehr lückenhaft und unbestimmt sind. Was z. B. das Spirillum volutans (Ehrenberg) und Ophidomonas jenensis (Ehrenberg), mit denen man unsere Art vergleichen könnte, anbetrifft, so kann ich, auf den Beschreibungen von Cohn[1]) fußend, dieselben sogar nicht einmal mit Bestimmtheit als Schwefelbakterien ansehen, da Cohn nichts von Schwefeleinschlüssen sagt, sondern nur einen dichten, dunkelkörnigen Inhalt erwähnt.

Der von Cohn angegebene Querdurchmesser des Spir. volutans (1,5 μ) ist zweimal kleiner, als wie derjenige von Thiospirillum Winogr.; bedeutend größer ist bei Spir. volutans auch die Zahl der Windungen, was ihm ein Aussehen verleiht (cf. Cohn, Taf. III, 21), welches von demjenigen des Thiospir. Winogr. durchaus differiert. Mehr Aehnlichkeit mit Thiospir. Winogr. bietet das Spir. volutans in der Beschreibung von Warming[2]), obgleich man auch hier, wenn man nach der beigefügten Abbildung urteilen will, nicht von Schwefeleinschlüssen reden kann (Tab. X, 11). Die von Warming angegebenen Maße nähern sich denjenigen des Thiospir. Winogr. mehr, namentlich bei Spir. volutans var. robustum, dessen Querdurchmesser zwischen 2 und 4 μ schwankt.

Vom Spirillum Rosenbergii (Warming) unterscheidet sich das Thiospir. Winogr. durch seine deutlich sichtbaren Cilien, seine Färbung (das Spir. Rosenb. besitzt ein „couleur sombre et noiratre“ [Warming l. c., p. 11]) und durch seine Maße (die Körperdicke des Spir. Rosenb. beträgt 1,5—2,6 μ).

Von den übrigen nahestehenden Schwefelbakterienformen unterscheidet sich unser Spirillum noch bedeutender. Es liegen also gewichtige Gründe vor, dasselbe als eine selbständige Schwefelbakterienart anzusehen.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Thiospirillum Winogradskii. Ungefärbt. Vergr. 1 × 150.
Fig. 2. Thiospirillum Winogradskii. Im Protoplasma liegen viele Schwefeltropfen. An einem Pol ist die Geißel sichtbar. Ungefärbt. Vergr. 1 × 1000.

Nachdruck verboten.

Bacillus macerans, ein Aceton bildender Rottebacillus.

[Mitteilung aus der k. k. Untersuchungsanstalt für Lebensmittel in Wien.]

Von **Franz Schardinger.**

Ueber die durch den genannten Mikroben bewirkte Acetongärung wurde bereits in No. 8 der Wiener klinischen Wochenschrift, Jahrg. 1904 berichtet. Die Ergebnisse fortgesetzter Studien über diese Gärung und die Verrottung pflanzlicher Gebilde sollen im nachfolgenden einem weiteren Leserkreise unterbreitet werden.

1) Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Heft 2. p. 181—184.
2) Warming, Observations sur quelques bactéries qui se rencontrent sur les côtes du Danemark. p. 22.

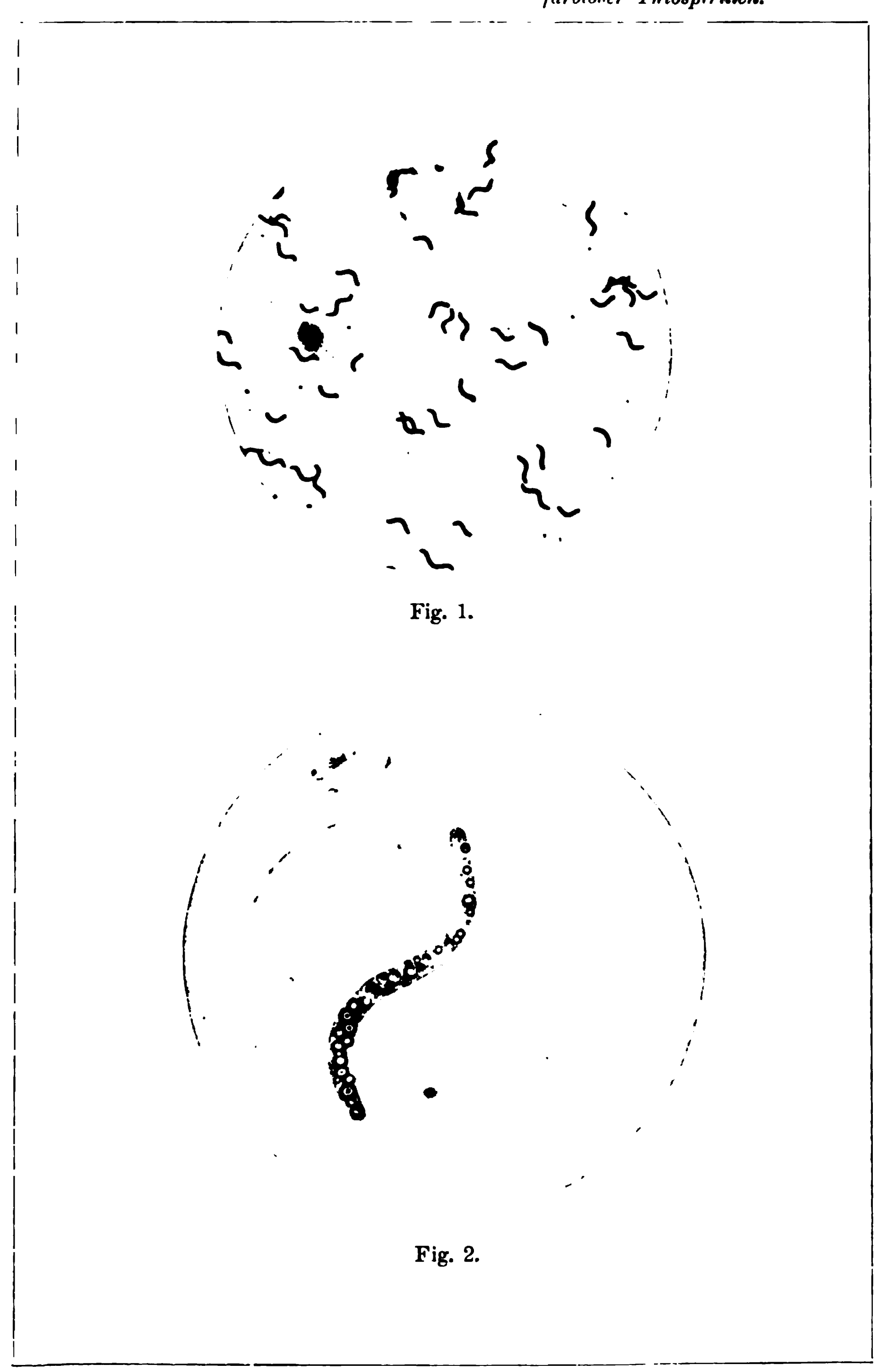


Fig. 1.

Fig. 2.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

F u n d o r t. Der Mikrobe wurde zuerst als „zufällige Verunreinigung“ in einem an drei aufeinanderfolgenden Tagen durch je eine Stunde im strömenden Wasserdampf sterilisierten Nährgemische, dessen Hauptbestandteil Kartoffelbrei bildete, aufgefunden. Bei Prüfung auf Keimfreiheit — Einstellen in den Brutraum bei 37° C — trat unerwartet Gärung ein, als deren Ursache sich der in Rede stehende Mikroorganismus entpuppte. Wie ich mich erinnere, waren die verwendeten bereits einige Monate eingemieteten Kartoffeln im Innern „fleckig“ gewesen, es ist also wohl möglich, daß Dauerformen dieses Spaltpilzes bereits in der Kartoffel vorhanden waren. Bei der später ausführlich geschilderten Herstellung von „Rohkartoffel-Eprouvetten“ beobachtete ich des öfteren bei Prüfung auf Sterilität spontanes Eintreten einer Gärung, verursacht durch diesen Rottebacillus.

Außer diesen zufälligen Funden entdeckte ich dann den Bacillus in mit gerottetem Flachse vermengtem Schlamme aus Flachsröstgruben zu Längenfeld im Oetztale.

Im genannten Orte wird die Kaltwasserröste zur Rottung des Flachses angewandt. Die Probeentnahme erfolgte gelegentlich einer Ferienfahrt im Oktober, also geraume Zeit nach Entleerung der Röstgruben. In den Abfällen des Flachses nach dessen weiterer Verarbeitung in der „Plui“ (abzuleiten von pleien) suchte ich vergebens nach ihm. Die im Wasser suspendierten zur Tötung etwa vorhandener vegetativer Formen kurze Zeit gekochten Abfälle blieben steril.

Ohne Zweifel werden sich weiterhin noch weitere Fundorte feststellen lassen.

M o r p h o l o g i e. Im Schwärmerstadium stellt der Bacillus schlanke, lebhaft bewegliche Stäbchen dar, einzeln oder in mehrzelligen Verbänden. Der Längendurchmesser beträgt 4—6 μ und darüber, die Dicke 0,8—1 μ; auf sauren oder sauer gewordenen Nährsubstraten werden die Längenmaße beträchtlich größer, die Dicke bleibt sich gleich.

Im Stadium der Sporenbildung und Reifung werden die Stäbchen unbeweglich. Die Sporenanlage befindet sich zumeist an dem einen Ende des Stäbchens, dessen Leib daselbst aufgetrieben wird. Nach vollzogener Sporenbildung schwindet das Stäbchen vollständig, nur das eine kurze Ende sitzt häufig wie ein Häubchen der Spore auf. Die reifen freien Sporen sind oval $\lambda = 2\ \mu$ und wenig darüber, $\delta = 1{,}5$—$1{,}8$ auch $2\ \mu$ (Sporenmaterial eingelegt in stark verdünntes Karbolfuchsin). — Die Sporen sind gegenüber der Temperatur kochenden Wassers sehr widerstandsfähig, wie sich aus dem folgenden Abtötungsversuche ergibt.

Das Sporenmaterial lieferte eine 10 Tage alte Kultur, die auf Rohkartoffel mit etwas $CaCO_3$ bei 37° gewachsen war. Je eine Oese (Durchmesser 2,5—3 mm) der breiigweichen Masse wurde in 10 ccm Zuckerbouillon übertragen und die Bouilloneprouvetten mit dem durch Schütteln gleichmäßig verteilten Materiale in einen siebartig durchlochten Porzellaneinsatz und dieser in ein kochendes Wasserbad mit konstantem Niveau gestellt. Ueber den herausragenden Teil der Eprouvetten — zu je einem Versuche wurden 6 Stück verwendet — war ein entsprechend weiter Glastrichter gestürzt, so daß der Wasserdampf sämtliche nicht im Wasser stehenden Teile der Eprouvetten umspülte. Die in bestimmten Zeitintervallen aus dem Apparate genommenen Eprouvetten kamen in den Brutofen. Auf diese Weise gelang es erst nach d r e i s t ü n d i g e m Kochen eine Abtötung der Sporen zu erzielen (keine Entwickelung mehr nach 7-tägiger Beobachtung).

Biologie. Auf den gebräuchlichen Nährböden erfolgt zwischen 15—40° C Wachstum (Temperaturen unter- bezw. oberhalb der angegebenen Grenzen wurden nicht geprüft).

Auf Gelatineplatten (Fleischpeptongelatine mit 3 Proz. Dextrose) sind ungefähr nach 8 Tagen punktförmige weißliche Kolonieen sichtbar, die nur wenig die Oberfläche überragen, sofern sie an dieser zur Entwickelung gelangten. Mikroskopisch präsentieren sich die oberflächlichen Kolonieen als gelbbraune Höckerchen mit gekerbtem Rande.

Gelatinestichkultur. Kümmerliches Wachstum im Stichkanal, auf der Oberfläche geringe Ausbreitung um die Einstichöffnung herum. Keine Gasentwickelung, keine Verflüssigung.

Agar (mit 3 Proz. Dextrose) schräg erstarrt bei 37°. Fast farbloser kaum merklicher Belag auf der schrägen Fläche, starke Trübung und Bildung schleimiger Flöckchen im „Kondenswasser". Hier und da Gasblasen im untersten Teile des Agars. Sporenbildung wurde auf diesem Nährboden nicht beobachtet.

Zuckerbouillon bei 37°. Rasches und üppiges Wachstum, diffuse Trübung der Bouillon, Bildung eines zähschleimigen Bodensatzes.

Milch gerinnt bei 37° innerhalb 36—48 Stunden, das abgeschiedene Serum ist trübe, Gasentwickelung (kein H_2S) reichlich.

Gekochte Kartoffel (Globig) bei 37°, rasches üppiges Wachstum in Form eines feuchtglänzenden Belages auf der schrägen Fläche, reichliche Gasentwickelung. Nach ein paar Tagen macht sich ein angenehmer, obstartiger Geruch bemerkbar. Die Kartoffelsubstanz wird breiigweich, bei energischem Schütteln sinkt in älteren Kulturen der Kartoffelcylinder zusammen.

Ein ähnliches Wachstum erfolgt auch auf Möhren-Rübencylindern, die zu einem wässerigen Brei zerfallen. Ein für den Bacillus charakteristisches Wachstum findet auf rohen Kartoffeln statt.

Die Herstellung dieses Nährbodens erfolgt in der Weise, daß die Kartoffeln wie gewöhnlich gereinigt werden. An der in Aussicht genommenen Ein- bezw. Ausstichstelle wird mit heißem Messer ein kleines Käppchen abgetrennt, mit einem Korkbohrer ein Cylinder herausgestemmt und dieser auf einer Lage sterilen Filterpapieres entsprechend entzweigeschnitten. Die Teilstücke werden dann mit der Pinzette in vorbereitete, mit Wattebausch, als Unterlage für das Kartoffelstück, und etwas Wasser versehene sterile Eprouvetten übergeführt. Die verwendeten Instrumente müssen sterilisiert sein. Die Oberfläche der Kartoffel färbt sich meist (nicht immer) braun bis braunschwarz, es dürfte wohl auch zur „Kork"bildung in den bloßliegenden Anteilen kommen. Für das Wachstum ist weder Färbung noch etwaige Korkbildung störend, hemmend wirkt nur ein höherer Säuregehalt namentlich lange eingemieteter Kartoffeln, durch Zugabe einer Aufschwemmung von $CaCO_3$ in Wasser ist dem Uebelstande abzuhelfen. Es empfiehlt sich, die fertiggestellten Nährböden längere Zeit diskontinuierlich bei 60—70° zu sterilisieren.

Kulturen auf rohen Kartoffelkeilen zeigen bei 37° zunächst Entwickelung eines schleimigen Belages, dann tritt reichliche Gasentwickelung unter Schaumbildung ein — auf der schrägen Fläche sieht man aus kleinen kraterförmigen Oeffnungen feine Gasbläschen dringen — und allmählich sinkt der Keil in sich zusammen; am 3.—4. Tage ist an Stelle des Kartoffelkeiles ein grauweißer wässeriger Brei getreten. Obstgeruch tritt nicht auf, Bildung von H_2S ist mit Bleipapier nicht nachzuweisen.

Mikroskopisch sieht man in dem Brei reichlich freie Sporen, Gewebstrümmer und Stärkekörner, deren äußere Begrenzung intakt geblieben ist, die aber im Innern, ausgehend vom exzentrisch gelegenen Mittelpunkt der Schichten häufig Zeichen beginnender Lösung (Risse, Sprünge) zeigen. Das Endresultat, die Verflüssigung, kommt offensichtlich dadurch zustande, daß die Intercellularsubstanz, der Zellkitt, gelöst wird, infolgedessen der Kartoffelturm einstürzt.

Die hervorragendsten Eigenschaften dieses Mikroben nun, um derentwillen er ein besonderes Interesse beanspruchen kann, sind ein ganz bedeutendes Auflösungsvermögen pflanzlicher Zellverbände und die Fähigkeit, Kohlehydrate unter Bildung von Aceton zu vergären.

Verrottung pflanzlicher Gebilde.

Unter natürlicher Rotte — Röste — versteht man den mit oder ohne Gasentbindung vor sich gehenden Zerfall von Pflanzenteilen, wobei bestimmte pflanzliche Bestandteile erhalten bleiben und so weiterer Verarbeitung leichter zugänglich gemacht werden können. So zählt z. B. zu den bekannten Gewinnungsarten der Gespinstfasern des Flachses auch die Warm- oder Kaltwasserröste, die dabei auftretende Gärung wird von Mikroorganismen hervorgerufen. (Näheres über diesen Vorgang sowie die einschlägige Literatur ist in Lafars Handbuch der techn. Mykologie, 2. Aufl., Bd. III. p. 269 zu finden.) Dieun ter Gasentbindung vor sich gehende Rotte wäre demnach eine Gärung, keine Fäulnis.

Welcher oder welche Körper, außer etwa vorhandenen Mono-, Di- und Polysacchariden, dabei vergären, läßt sich zur Zeit nicht feststellen, da die Konstitution der hauptsächlich in Frage kommenden Körper noch unbekannt ist. Sicher ist, daß, wenn der Zellverband gelockert oder gelöst wird, der Zellkitt gelöst werden muß. Dieser Kitt soll aus Pektinkörpern bestehen, die Rotte wäre demnach eine „Pektingärung".

In unserem Falle wurde Rotte beobachtet zunächst, wie bereits erwähnt, bei rohen Kartoffeln, dann auch bei nachstehend verzeichneten — allerdings vorher durch Kochen sterilisierten — Pflanzenteilen: Kraut (Brassica oleracea), weiße Rüben, Karotten, Radieschen, grüne Erbsen und ihre Hülsen, Pflaumen, Aepfel, Birnen, Orangen (Schale und Fruchtfleisch), Klettenwurzel (Radix Bardanae).

Soweit aus meinen Versuchen, die durchweg bei 37 ° vorgenommen wurden, Folgerungen abgeleitet werden dürfen, ist die Raschheit des Eintrittes der Verrottung von der Natur des pflanzlichen Gewebes bezw. seiner Angreifbarkeit und von der Reaktion abhängig. Hoher Säuregehalt verhindert oder verzögert zum mindesten den Vorgang. Zugabe von $CaCO_3$ beschleunigte im allgemeinen den Röstprozeß. Einige im „Kleinbetriebe" vorgenommene Versuche der Gewinnung von Kartoffelstärke auf dem Wege der Verrottung [1]) fielen nicht ungünstig aus, sowohl nach der Menge wie nach der Beschaffenheit der gewonnenen Stärke. Entscheidend für die Anwendbarkeit in der „Praxis" können derlei Versuche wohl nicht sein; zur Durchführung größerer Versuche fehlen mir jedoch die äußeren Bedingungen. Sehr hübsch läßt sich der Vorgang der Verrottung bei jungen Radieschen verfolgen. (Zugabe von $CaCO_3$ nötig). 20 Stunden nach der Impfung tritt reichliche Gasentbindung auf, die Oberhaut der Radieschenstücke löst sich allmählich vom Marke los und ist am 3. Tage in ihrer Gänze als zartes durchscheinendes Häutchen abgelöst; das Mark wird nach und nach zerfasert und in einen

1) Vergl. Saare, Fabrikation der Kartoffelstärke. p. 372.

weißen Brei verwandelt. Wird der Brei mit dünner Salzsäure vom überschüssigen $CaCO_3$ befreit, in Phloroglucinsalzsäure (1 g Phloroglucin in 100 ccm 12-proz. Salzsäure) übertragen, so färben sich bald einzeln liegende, bald zu Konvoluten zusammengeballte Fäserchen (Gefäße) schön rotviolett (Ligninreaktion). Bei grünen Erbsen (mit oder ohne Zutat von $CaCO_3$) tritt die Röste ebenfalls unter lebhafter Gasentwickelung ein. Unverletzte Samen blähen sich auf, die Samenhaut wird durchscheinend, platzt schließlich und die Kotyledonen fallen heraus. Bei den Erbsenschoten (Zugabe von $CaCO_3$) tritt eine förmliche Schaumgärung ein, zwischen den Lamellen der Schote bilden sich Gasblasen und nach ein paar Tagen läßt sich das Stützgerüst sehr leicht und vollständig aus dem breiig weichen Oberflächenbelage auslösen. Diese Gerüstlamellen färben sich in Phloroglucinsalzsäure in toto rotviolett, sie sind in ammoniakalischer Kupferkarbonatlösung unlöslich.

Im großen und ganzen ähnlich verläuft die Rotte auch bei den übrigen vorhin angeführten Pflanzenteilen. Weiße Rüben zerfallen rascher als Karotten, von Apfelschnitten wird die Schale prächtig lospräpariert. Kraut zerfällt allmählich zu einem von Fasersträngen (Gefäßen) durchsetzten Brei. Sehr lebhaft gärt die Klettenwurzel, wobei ein starker Geruch nach Aceton auftritt; der gänzliche Zerfall der Wurzelstücke (100 g) dauerte ein paar Wochen. Sehr interessant und zur Klärung der Frage „was vergärt" unbedingt nötig wäre ein eingehendes Studium des substantiellen Verlaufes dieser Gärung, wozu allerdings umfangreiche Untersuchungen nötig wären. Nachstehend seien einige Ermittelungen in verrotteten Rückständen mitgeteilt, die nur orientierende Versuche darstellen sollen. Zur eingehenderen Analyse gebrach es mir sowohl an Material wie an Zeit.

W e i ß e R ü b e n. Gekochte, dann von den Rindenpartieen befreite, weiße Rüben wurden in Würfel zerschnitten und in Wasser mit $CaCO_3$ suspendiert.

Gewicht der Rübenschnitte 187 g (Wassergehalt 93,6 Proz.), des $CaCO_3$ 10 g. Die Verrottung der Rüben war nach 6 Tagen fast vollendet, der Kolben wurde jedoch noch ca. 3 Wochen bei 37° belassen. Nach dieser Zeit war der Geruch des Kolbeninhaltes angenehm rübenartig, H_2S war mit „Bleipapier" nicht nachzuweisen.

Der Rückstand im Kolben wurde auf gewogenem Filter gesammelt, mit chloroformhaltigem Wasser bis zum Verschwinden der CaO-Reaktion gewaschen, getrocknet und gewogen. Die Menge desselben betrug 9,4 g. Im Filtrate (inkl. der Waschwässer) wurde ein Kalkgehalt von 1,8 g $CaCO_3$ gefunden. Vom Gesamttrockenrückstande der verwendeten Rüben (22 g) verblieben demnach 11,2—10 ($CaCO_3$) = 1,2 g.

K r a u t. 236 g grob zerschnittenes, von größeren Rippen befreites Kraut wurde unter Zugabe von $CaCO_3$ durch ca. 4 Wochen verrottet. Der überschüssige Kalk wurde mit verdünnter Salzsäure in Lösung gebracht und das Ungelöste auf gewogenem Filter gesammelt etc. Der bei 100° getrocknete Rückstand abzüglich des Filters wog 2,3 g.

222 g Kraut gaben in einem weiteren Versuche bei gleichem Vorgange wie vorhin einen Gesamttrockenrückstand von 2,4 g.

2 g dieses Trockenrückstandes mit Petroläther ausgezogen erlitten einen Gewichtsverlust von 0,165 g, d. i. von 8,2 Proz. (Fett etc.).

Eine Bestimmung der P e n t o s a n e im entfetteten Rückstande ergab einen Gehalt von 9,9 Proz.

Im entfetteten Rückstande von Möhren wurde ein Pentosangehalt

von 25,4 Proz. und ein Gehalt an Rohfaser (König) von 17,4 Proz. ermittelt.

Weißkraut enthält nach C. Wittmann[1]) 0,55 Proz., Karotten enthalten nach Wittmann und A. Stift[2]) 0,9—1,2 Proz. Pentosane; in der Trockensubstanz der Möhre sind nach Czapek[3]) 11,3 Proz. Rohfaser enthalten.

Die zweite den Bacillus unter seinen Brüdern hervorhebende Eigenschaft ist sein Vermögen, in gewissen Nährsubstraten eine Acetongärung hervorzurufen.

Ueber die Bildung von Aceton durch Gärung finden sich einige Angaben in der Literatur[4]), die dabei beobachteten Mengen scheinen jedoch sehr gering gewesen zu sein.

Wenn auch bei der jetzt zu besprechenden Gärung außer Aceton noch Alkohol und organische Säuren (Ameisen-, Essigsäure) gebildet werden, so erscheint mir der Name „Acetongärung" doch der zweckdienlichste zu sein, da dieser Körper diese Gärung am besten charakterisiert, ähnlich wie die Buttersäure bei der Buttersäuregärung etc. Ich wiederhole zunächst im wesentlichen die in der Wiener klin. Wochenschrift (l. c.) beschriebenen Versuche, die, im Laufe der Zeit mehrfach wiederholt, immer dasselbe Resultat ergaben.

Gekochte und geschälte Kartoffeln werden mit etwas $CaCO_3$ und Wasser zu einem dicklichen Brei verrieben, der Brei in Kolben gefüllt und sterilisiert. Die gewöhnliche Füllung für einen Kolben betrug: 6 Stück mittelgroße Kartoffeln, 1500 ccm Hochquellwasser. Es empfiehlt sich, zur Einleitung der Gärung in den großen Kolben gleich größere Mengen Impfmateriales zu verwenden. Gewöhnlich gebrauchte ich Erlenmeyer-Kölbchen, die mit ca. 100 ccm Gärmateriales beschickt, sterilisiert, mit einer Bouillonkultur des Bacillus geimpft, bereits einige Tage bei 37 ° gestanden hatten. Bei 37 ° wird nach vollzogener Impfung je nach der Menge des übertragenen Impfmateriales mehr oder minder rasch der ganze Brei von Gasblasen durchsetzt, auf der Oberfläche bildet sich nach ca. 24—36 Stunden eine großblasige Schaumdecke. Zu dieser Zeit macht sich bereits im Brutofen ein angenehmer Geruch nach Obst bezw. Aceton bemerkbar. Nach 4 Tagen ungefähr läßt die Intensität der Gärung bedeutend nach; die Gärung wird abgebrochen und der jetzt leicht bewegliche Kolbeninhalt sofort einer Destillation unterzogen.

Bei der Gelegenheit sei ausdrücklich hervorgehoben, daß sich in rein geführten Gärversuchen niemals ein Geruch nach Buttersäure, weder in der nativen noch angesäuerten Kultur, bemerkbar machte.

Das Erwärmen der Kolben — am zweckmäßigsten in einem Salzwasserbade — muß anfangs der starken Schaumbildung halber langsam vor sich gehen, gerät einmal die ganze Flüssigkeit ins Kochen, so geht die Destillation meist anstandslos vor sich. Gewöhnlich wurden ca. 200 ccm abdestilliert. Die von 4 vergorenen Kolbenfüllungen erhaltenen vereinten Destillate wurden neuerdings unter Zugabe etwas verdünnter Schwefelsäure destilliert und das Destillat mit geglühter Pottasche entwässert.

1) Zeitschr. f. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. IV. p. 138.
2) König, Die menschlichen Nahrungs- und Genußmittel. 4. Aufl.
3) Czapek, Biochemie der Pflanzen. p. 535. Jena (Fischer) 1905.
4) Mörner, K., Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXII. p. 514. — Kayser, E., Ann. de l'Institut Pasteur. T. VIII. — Baginsky, A., Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XII. p. 434. — v. Jacksch, Berl. Ber. Bd. XIX. p. 781.

Die von der Pottasche abgezogene Flüssigkeit — rund 100 ccm — ist wasserklar, leicht beweglich und riecht stark nach Aceton. Die Anwesenheit desselben wurde auch durch folgende Reaktionen bestätigt, so durch die Jodoformprobe nach Gunning, durch die Proben von Reynolds, von Legal und von Penzoldt. Eine Aldehydreaktion wurde nicht erhalten.

Die Flüssigkeit wurde dann (in einigen Versuchen auch unter Zugabe von scharf geglühtem CaO) fraktioniert. Als erste Fraktion wurden die zwischen 56—66° übergehenden Anteile aufgefangen; eine zweite Fraktion ging zwischen 67—75° über und endlich eine dritte zwischen 75—78°. War die Trocknung unzureichend, so hinterblieb im Kölbchen bald mehr, bald weniger braun gefärbtes Wasser.

Behufs Reindarstellung des Acetons wurden 10 ccm der Fraktion I mit 20 ccm Natriumbisulfitlösung versetzt. Nach einiger Zeit schied sich im Reaktionsgemisch ein kristallinischer Brei ab — mikroskopisch: schöne wohl ausgebildete rhombische Tafeln — der nach 24 Stunden auf einem Trichter mit Platinkonus gesammelt und durch Absaugen mit der Wasserstrahlpumpe von anhaftender Mutterlauge möglichst getrennt wurde. Die auf dem Trichter befindlichen perlmutterartig glänzenden Schuppen wurden mehrmals mit Aether gewaschen, über Schwefelsäure getrocknet, sodann in Wasser gelöst, mit Soda zersetzt und das abgeschiedene Keton wieder durch Destillation gewonnen. Das durch geglühte Pottasche entwässerte Destillat ging neuerdings destilliert bis auf geringe Spuren bei 56—57° über. Der Siedepunkt des Acetons liegt bei 56,5°. Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß unter den flüchtigen Gärprodukten Aceton (Dimethylketon) enthalten war.

Ein Teil der Fraktion III wurde mit essigsaurem Natron und Schwefelsäure erwärmt, wobei der markante Geruch nach Essigester (Essigsäureäthylester) auftrat. Nach dem Siedepunkt der Fraktion und der Bildung des genannten Esters ist ein weiteres Produkt der bacillären Einwirkung auf Kartoffel: Aethylalkohol.

Quantitative Bestimmung des gebildeten Acetons im Destillate vergorener Kartoffel und Pflaumen.

I. Kartoffel. 3 Kolben beschickt mit Kartoffelbrei (je 3 Stück mannsfaustgroße Kartoffeln pro Kolben) $CaCO_3$ und 800 ccm Wasser. Gärdauer bei 37° 6 Tage. Wegen allzu starker Schaumbildung bei der Destillation mußte dieselbe abgebrochen und die Flüssigkeit durch Kolieren und Abpressen vom unvergorenen Anteil abgetrennt werden. Vom ersten Destillate (900 ccm) wurden unter Zugabe von verdünnter Schwefelsäure 269 g abdestilliert. Die Bestimmung des Acetons nach Messinger[1]) ergab einen Gehalt von 6,9 Gewichtsprozent Aceton; Alkohol nach Fr. Adam 20,89 Gewichtsprozent.

II. Pflaumen. Entkernte Pflaumen wurden mit etwas $CaCO_3$ und Wasser versetzt sterilisiert. Die Gärung durch den Rottebacillus beginnt sehr rasch und dauert in fast ungeschwächter Lebhaftigkeit durch 14 Tage an. Die Gasbildung ist so reichlich, daß die breiig zerfallende Maische auf der Flüssigkeit schwimmt. Das Destillat riecht sehr angenehm, Slivovitz ähnlich, und enthält durch geglühte Pottasche entwässert, wie die Fraktionierung ergab, ebenfalls Aceton, Aethylalkohol und überdies in Spuren einen Aether mit einem an Rosenöl erinnernden Geruch.

---

1) Vergl. Huppert, Anleitung zur quantitativen Harnanalyse. 10. Aufl. p. 760.

Aus einer größeren Partie vergorener Pflaumen (Gärdauer 1 Monat) wurden 1500 ccm abdestilliert. Spezifisches Gewicht des Destillates 0,9807. Von dieser Flüssigkeit wurden wieder 311 g abdestilliert und spezifisches Gewicht, Alkohol, Aceton sowie Gesamtäther bestimmt. Spezifisches Gewicht 0,95695. Zur Verseifung der Aether sind bei Zimmertemperatur für 100 ccm 8 ccm $^1/_{10}$ N.-Lauge erforderlich.

Die Menge des Aethylalkohols bestimmte Herr Kollege Fr. Adam nach der von ihm im Prinzipe angegebenen Methode [1]) zu 24,5 Gewichtsprozent. Herr Adam hat seither die Ausführung der Bestimmung in der Weise modifiziert, daß sie auch für wässerige Destillate anwendbar ist und wird seinerzeit an anderer Stelle darüber berichten.

Die Menge des Acetons betrug nach Messinger 6,4 Gewichtsproz. Zur Kontrolle wurde das Aceton auch nach Robineau und Rollin [2]) bestimmt, bei welcher Methode nach Angabe der Autoren die Anwesenheit von Aethylalkohol ohne Einfluß auf das Resultat ist, und ein Gehalt von 6,5 Gewichtsprozent gefunden. Es gibt daher auch die bequemere Methode von Messinger für den vorliegenden Zweck genügend genaue Resultate.

Bekanntlich beruht die Bereitung von „Slivovitz" bis jetzt auf einer „wilden" Gärung; Versuche, ob die Bereitung durch Gärung mit dem Rottebacillus gewerblich rentabel wäre, sollen zur Zeit der Pflaumenreife vorgenommen werden.

Die Anwesenheit von Aceton hätte für die Genießbarkeit des Produktes keine schädlichere Bedeutung als der Alkohol überhaupt, da nach Albertoni [3]) 12—16 g Aceton „keine abnormen Erscheinungen als leicht vorübergehende Betäubung machen".

Acetonbildung wurde außer in den angeführten Fällen noch beobachtet und Aceton im Destillate durch qualitative Reaktionen nachgewiesen bei vergorenen Möhren, weißen Rüben, Reis, Polenta, Rosinen, Aepfeln, Birnen, verkleisterter Stärke, Inulin, letztere beiden in anorganischer Nährsalzlösung, und inulinhaltiger Klettenwurzel (Rad. Bardan.); dann im Destillate von Milch, die mit dem Rottebacillus vergoren war, endlich in vergorenem Rohrzucker (Nährlösung mit Pepton). In den beiden letzten Fällen wurden überdies Aldehydreaktionen erhalten, wobei es vor der Hand dahin gestellt bleiben soll, ob die Bildung von Aldehyd nicht einem sekundären Prozesse zuzuschreiben wäre.

Es seien hier einige Versuche über die Vergärung von Kohlehydraten angeschlossen.

In einer Nährlösung, d. i. wässerige Lösung von 1 Proz. Pepton, 0,5 Proz. NaCl, 1 Proz. des betreffenden Kohlehydrates mit etwas $CaCO_3$ wurde bei 37° Gärung beobachtet bei: Dextrose, Lävulose, Galaktose; Rohrzucker, Maltose, Milchzucker; verkleisterter Stärke, Inulin; Arabinose.

Wurde die von Omelianski in seiner Arbeit über Cellulosegärung [4]) angegebene Nährlösung — 1 l Wasser, 1 g Kaliphosphat, 1 g Ammonphosphat, 0,5 g Magnesiasulfat, Spur Kochsalz mit etwas $CaCO_3$ und 1 Proz. Kohlehydrat — verwendet, so wurde keine Gärung weder bei 37° noch bei 40° beobachtet, wenn die Nährlösung in dünner Schicht (Erlenmeyer-Kolben) dargeboten wurde. Bei Gärprüfung in hoher

1) Oesterr. Chem.-Zeitung. 1899. No. 9.
2) Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XXXIII. p. 87.
3) Kunkel, Handb. d. Toxikologie. p. 482. Jena (Fischer) 1899.
4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. p. 226.

Schicht — verwendet wurden die Gruberschen Anaërobeneprouvetten, die bis zur Einschnürung gefüllt waren — trat bei 37°, noch rascher bei 40° Gärung ein und zwar eine intensive, Wochen hindurch andauernde bei Dextrose, Milchzucker, Maltose, Mannose (Schaumbildung, Trübung des Eprouvetteninhaltes), eine schwächere, aber auch andauernde bei Kandiszucker (der invertiert wird), Arabinose; keine Gärung trat ein bei Lävulose, Galaktose.

Verkleisterte Stärke, Inulin vergoren ebenfalls lebhaft in dieser Nährlösung.

Nach dem in diesem Kapitel dargelegten Sachverhalte kann es keinem Zweifel unterliegen, daß Kohlehydrate die Quelle der Acetonbildung sind, ob in manchen Fällen, z. B. Kartoffeln, Pflaumen, nicht auch der eine oder andere Bestandteil der „Pektinkörper" mit vergärt, muß weiteren Studien überlassen bleiben.

Gärprodukte saurer Natur.

Zur Prüfung der bei dieser Gärung gebildeten Säuren wurden die Flüssigkeiten vergorener verkleisterter Stärke, von Inulin und Traubenzucker verwendet.

Als Nährlösung diente die vorhin erwähnte anorganische Salzlösung mit $CaCO_3$, die Gärdauer betrug 6—8, bei Dextrose 12 Wochen.

Im Filtrate der vergorenen Flüssigkeit, die durch Filtration leicht vollständig klar zu erhalten ist, verursacht Eisenchlorid keine auffallende Färbung.

Der Vorgang zur Isolierung der gebildeten Säuren war der gewöhnliche, Einengen der Lösung, Fällen mit Oxalsäure, Uebertreiben der flüchtigen Säuren mit Wasserdampf, Ausziehen des Rückstandes mit Aether.

In keinem Falle wurde Milch- oder Bernsteinsäure vorgefunden.

Nachdem mehrere Versuche, die Trennung der flüchtigen Säuren durch Kristallisation der Kalksalze oder fraktionierte Fällung mit Silbernitrat vorzunehmen, zu keinem brauchbaren Ergebnis geführt hatten, wurde folgendes Verfahren als für den vorliegenden Fall brauchbarstes erkannt: Umwandlung der flüchtigen Säuren in Zinksalze und Trennung dieser durch Behandlung mit 96-proz. Alkohol.

Der in Alkohol ungelöste Teil wurde mehrmals aus Wasser umkristallisiert und das in glashellen stark lichtbrechenden rhombischen Kristallen erhaltene Zinksalz analysiert.

I. 0,599 g lufttrockene Substanz verlor bei 105° getrocknet 0,1138 g Wasser, d. s. 18,99 Proz., und gab nach dem Veraschen 0,2551 ZnO entsprechend 0,2047 Zn, d. s. 42,19 Proz.

II. 0,3146 g lufttrockene Substanz verlor bei 105° 0,0602 g Wasser, d. s. 19,13 Proz. und gab nach dem Veraschen 0,1352 ZnO entsprechend 0,1085 Zn, d. s. 42,65 Proz. Ameisensaures Zink + 2 aqu. enthält Wasser 18,85 Proz., Zn 41,93 Proz.

Der im Alkohol gelöste Teil wurde nach Verjagung des Alkohols mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, die flüchtige Säure mit Wasserdampf überdestilliert, das Destillat mit Na_2CO_3 neutralisiert und nach Einengen mit Silbernitrat fraktioniert gefällt.

I. Fraktion. 0,2914 g trockenes Salz hinterließ nach dem Glühen 0,1906 g Ag, d. s. 65,40 Proz.

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XIII.

II. Fraktion. 0,2805 g trockenes Salz gab 0,1832 g Ag, d. s. 65,31 Proz.

Essigsaures Silber enthält 64,66 Proz. Ag. Die gebildeten Säuren sind demnach Essig- und Ameisensäure. Der Menge nach prävaliert letztere bedeutend.

Stellung im System und Benennung.

In der mir zugänglichen Literatur fand ich keinen Gärungs- bezw. Rösterreger, der sich mit dem geschilderten identifizieren ließe. Von den bei der Flachs- und Hanfröste beteiligten spezifischen Organismen entfällt ein Eingehen auf die „Anaërobier“, von den fakultativen Anaërobiern zeigt nur das „Plectridium pectinovorum“ Störmer[1]) manche Aehnlichkeit, namentlich in morphologischer Hinsicht. In physiologischer Beziehung sind jedoch wesentliche Unterschiede unverkennbar. Das Plectridium Störmers ist entschieden luftscheuer, gedeiht nicht auf Fleischpeptonagar, Gelatine, Bouillon, vergärt Kohlehydrate nicht bei anorganischer Stickstoffquelle, bildet Buttersäure, seine Sporen sind gegenüber 100° wenig widerstandsfähig, also genügend gewichtige Merkmale, um eine Identität auszuschließen.

Nach meiner Ansicht ließe sich der Organismus am ungezwungensten in die Gruppe der „Heubacillen“ einreihen, zumal einigen Repräsentanten dieser Gruppe auch Rottevermögen zukommt, so z. B. dem Bacillus asterosporus Meyer, den Migula in seinem System der Bakterien, Bd. II, p. 528 ebenfalls in dieser Gesellschaft anführt. Die große Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Temperatur ähnelt ebenso auffallend der Zähigkeit der Heu-Kartoffelbacillussporen.

Schließlich wäre noch die Namensgebung an dem neuen Organismus zu vollziehen. Nach Plinius (Historia naturalis) gewannen die Römer den Flachs durch eine von der heutigen wenig abweichende Behandlungsweise, es war ihnen auch die Wasserröste bekannt (Rösten = macerare).

Da meine Kenntnisse der lateinischen Sprache nicht ausreichen, um einen kurzen Ausdruck für Acetongärung ohne Vergewaltigung der Sprache zu finden, so soll wenigstens eine der Fähigkeiten des Mikroben in der Bezeichnung erkenntlich sein, und derselbe den Namen „Bacillus macerans“ führen.

Untersuchungen über Sauerkrautgärung

Von Prof. Dr. C. **Wehmer**-Hannover.

Mit 2 Tafeln.

(Schluß.)

Einen ganz anderen Rang nehmen natürlich die Kahmhefen, von denen 2 stets wiederkehren, ein; es sind das die wohl auch von Conrad erwähnten, nicht gärungserregenden Formen. Sie wachsen auf Kohlsaft ohne Gärungserscheinungen als weißgraue Decken und haben für die Krautgärung nur Bedeutung als Saft- und Säurezerstörer. Daß sie nach Wochen im Saccharometer ein Minimum Gas mit Alkohol erzeugen, gelegentlich auch reichlich submers (Würze) gedeihen, ändert daran nichts.

Minder einfach stellt sich die Sachlage mit den Bakterien. Hier gelang es mir nur eine lebhaft säuernde Art zu isolieren, eine andere ist minder wirksam; ob letztere die Art Conrads ist, mag ich nicht entscheiden, erstere als unbewegliches Kurzstäbchen hat jedenfalls nichts mit dieser gemein. Diese ist es aber, welche als Hauptsäurebildner meiner eigenen, sowie der untersuchten Fabrikgärung anzusehen ist, sie erzeugt weder in Kohlsaft noch in Kohlsaft-Agar oder -Gelatine Gas, ist also an den Gärungserscheinungen (d. h. der Gasentbindung) ganz unbeteiligt, vermag aber sowohl für sich wie in Gemeinschaft mit den Alkoholhefen unschwer die volle Acidität des Krautsaftes zu erzeugen, und das zusammengenommen mit ihrem reichlichen und regelmäßigen Auftreten auf meinen Platten scheint für die Beurteilung ihrer Rolle entscheidend. Auch hier lasse ich aber das Mitspielen anderer Arten noch offen, es mag das je nach den Verhältnissen stattfinden, so daß naturgemäß meine Folgerungen zunächst nur für die untersuchten Gärungen gelten. Diese Art steht, wie schon bemerkt, dem B. Güntheri jedenfalls sehr nahe.

Die Bakterienflora, zumal älterer Gärungen, ist damit keineswegs erschöpt; besonders die untersuchten Fabrikbottiche weisen noch mancherlei auf, das sich trotz der Acidität in bescheidenem Maße entwickelt, während der Milchsäurebildner dann im Saft merklich zurückzutreten beginnt (Absterben). So findet man gelegentlich in altem Bottichsaft überwiegend Fremdes, unter dem auch Schimmelpilze eine Rolle spielen. Von Bakterien erwähne ich nur eine rasch wachsende und verflüssigende, anscheinend mit Bacterium vulgare identische Art.

Schimmelpilze endlich sind nur gleichgültige oder direkt störende Elemente, insofern sie zur Entsäuerung beitragen. Das regelmaßige Vorkommen von Oidium lactis — dem Hauptmilchsäurezerstörer — wurde schon wiederholt erwähnt. Zumal in älterer Brühe findet man reichlich — aber erst auf den Gelatine- oder Agarplatten zur Entwickelung kommende — Penicilliumsporen, sonstiges aber mehr ausnahmsweise, es ist hier auch ohne Interesse; so sucht ein weiser Aspergillus gern alkalisch gewordene Brühen auf, an den Rändern der Fabrikbottiche erscheint oft ein kleiner, vielleicht mit M. racemosus identischer Mucor u. a.

Gerade wie alte, so zeigen auch ganz junge Gärungen, bevor sie sich zu der ausgesprochenen Säuerung entwickeln, eine Mischflora, in der das Vorkommen lebhaft beweglicher Stäbchen auffällt; unter diesen mögen sich auch die gasbildenden Arten Conrads (B. Brassicae acidae) und Aderholds (B. coli der Gurkengärung) finden, aber schon nach wenigen Tagen schlägt die Konkurrenz der unbeweglichen Milchsäurebildner und Hefen alles das aus dem Felde.

Beschreibung der Organismen.

I. Hefen.

a) Alkoholhefen.

Auf Grund von Zellform und Größe sind 3 Hauptformen, die morphologisch als besondere Arten anzusehen, zu unterscheiden, das sind die als Hefe I—III bezeichneten, Hefe VI und VII sind wie Hefe III ellipsoidische Formen, mikroskopisch stimmen diese drei letzteren fast überein, und wenn auch die wenigen Versuche hinsichtlich des

Gärungsvermögens kleine Differenzen gaben, so scheint mir das für eine Trennung doch bislang nicht ausreichend. Sie bilden anscheinend die Hauptflora sowohl eigener wie der beobachteten Fabrikgärung.

1) Hefe I (Saccharomyces Brassicae I). Taf. II. Fig. 6.

Zellform kugelig-länglich, Cerevisiae-ähnlich, nur schwach gestreckt, ziemlich klein, nicht wesentlich über $6 \times 4 - 5\ \mu$, viele Individuen in den Kulturen aber kleiner (wohl zum Teil jüngere Stadien). Irgend besondere Merkmale fehlen. Wachstum auf Kohlsaft-Agar bezw. -Gelatine als Strich- oder Stichkultur ohne deutliche Unterschiede von den anderen Arten, ebenfalls auf der Platte; überall grauweiße fettigfeuchte, scharf umschriebene, schwach erhabene Belege bezw. Kolonieen breiiger Konsistenz; als Bodensatz in den gärenden und vergorenen (entfärbten) Flüssigkeiten festanliegende grauweiße Masse, von der Gasbläschen aufsteigen. Sporen bislang nicht beobachtet. Sehr gärkräftg. In Kohlsaft Gärung erregend, besonders lebhaft (rasch eintretend und verlaufend) bei Dextrosezusatz, auch in Würze Gärungserscheinungen. Aus Fabrikbottich isoliert, die Hauptvegetation der Platten aus älteren Bottichen bildend.

2) Hefe II (Saccharomyces Brassicae II). Taf. II. Fig. 7.

Zellform durchweg kugelig (mit wenigen Ausnahmen), klein, nicht über 3,6—4,8 μ im Durchmesser, vielfach auch kleiner, fast regelmäßig mit kleinen, stärker lichtbrechenden Körnchen im Plasma oder Vakuole. Aussehen der Kulturen ohne greifbare Unterschiede gegen die übrigen Arten, wie bei 1. Sporen bislang nicht beobachtet. Gärkräftig, festen grauweißen Bodensatz bildend. In Kohlsaft, Dextrose, auch verdünnter Würze Gärung erregend. Aus eignen Krautgärungen isoliert, neben Bakterium I Hauptvegetation der Platten bildend.

3) Hefe III (Saccharomyces Brassicae III). Taf. II. Fig. 8.

Zellform ellipsoidisch, auch etwas länger gestreckt, nie kugelig, ziemlich klein, größere Individuen $7 \times 4\ \mu$, ohne irgend besondere Merkmale. Mikroskopisches Bild von den der beiden vorhergehenden Arten ganz verschieden. Kulturelles Aussehen und Gärungsvermögen jedoch ohne greifbare Unterschiede. Sporenbildung nicht beobachtet. Aus Fabrikbottich isoliert. Nach Verhalten und Aussehen stimmen mit ihr die als Hefe VI und VII isolierten (aus eigener und Fabrikgärungen) gut überein; diese Form gehört also zu den häufigeren.

b) Kahmhefen[1]).

1) Hefe IV (Saccharomyces Mycoderma I. kugelige oder „weiße Kahmhefe"). Taf. II. Fig. 9.

Zellform kugelig, nie ellipsoidisch, klein, 3,6—5 μ im Durchmesser, fast regelmäßig mit glänzendem Tröpfchen variabeler Größe in Mitte der Zelle, das ansehnliche Größe erreichen kann. Ohne Gärvermögen (Kohlsaft, Würze). Sporen bislang nicht beobachtet. Meist mehlige weiße gefaltete derbe Kahmhäute (auf Kohlsaft) bildend, von denen Fragmente reichlich zu Boden fallen, doch auch rein submers — nach voraufgegangener Trübung — als pulverig weißer oder mehr voluminöser Bodensatz der Gefäße vegetierend, und so wiederholt in Würze

1) Die beiden Arten entsprechen anscheinend der „langen" und „runden Hefe des Sauerkrautes" von Conrad, l. c.

(also ohne Hautbildung!) kultiviert, nie sichtbare Gasentbindung (im Saccharometer erst nach mehreren Wochen ein kleines Gasbläschen). Lebhaft Milchsäure zerstörend (entsäuernd wirkend). Auf Kohlsaftgelatine scharf umschriebener, dicker weißer Belag.

Erscheint fast regelmäßig auf gärenden Krautbrühen zur Zeit des Säuremaximums als ausgebreitete weiße Haut, wesentlicher Bestandteil des Trubs.

2) Hefe V (Saccharomyces Mycoderma II. Lange oder „Graue Kahmhefe"). Taf. II. Fig. 10.

Zellform ellipsoidisch (nie kugelig), größer, ca. 8,4 × 4,8—6 μ, ohne besondere Merkmale. Ohne Gärvermögen (Kohlsaft, Würze). Sporen bislang nicht beobachtet. Meistens ausgebreitete Kahmhäute bildend (Kohlsaft), die jung zart und mattgrau, im Alter aber derb, faltig und denen der vorigen Art sehr ähnlich werden (grauweiß), aber auch nach voraufgegangener Trübung submers als graugelblicher Bodensatz ohne Hautbildung vegetierend (Würze) oder hier nur zarte Haut bildend; derbe faltige Häute scheinen also bei dieser wie der vorigen Art nur auf gewissen, besonders zusagenden Substraten (Kohlsaft) zu entstehen. Sporenbildung bislang nicht beobachtet. In Würze (Gärungssaccharometer) erst nach längerer Zeit Spur von Gas bildend (in 4 Wochen ca. 1 ccm.). Lebhaft freie Milchsäure zerstörend. Auf Gelatine ausgebreitete matte Bezüge bildend (Strichkultur).

Regelmäßig und scheinbar häufiger als vorige Art auf Krautbrühen, aber auch auf ungesäuertem Kohlsaft, unter lebhafter Deckenentwicklung auftretend, Trubbestandteil.

II. Bakterien.

Nur die Säuerungserreger meiner Brühen[1]) seien hier aufgeführt. Praktisch kommt von den 2 isolierten Arten nur die erste in Frage.

1) Bakterium I (B. Brassicae, wohl Form des B. Güntheri). Fig. 3—5, Taf. II.

Sehr kurze Stäbchen bis isodiametrisch (Kokken), unbeweglich, gern zu zweien oder seltener zu mehreren (4 und mehr) zusammenhängend. Die Verbände stets mit scharf hervortretenden Querwänden, gerade oder schwach gekrümmt. Art des Substrats ohne merklichen Einfluß. Sporenbildung fehlt. Dimensionen ca. 1 μ Durchmesser bezw. 1 × 1,2 μ. Aërob wie anaërob gedeihend und säuernd.

In Kohlsaft bereits nach 1—2 Tagen (15°) deutlich matte Trübung, die zunächst einige Tage zunimmt, weiterhin von der Oberfläche ab allmählich Klärung, keine Hautbildung. Keine sichtbare Gasentbindung. Deutliche Ansäuerung schon nach einigen Tagen (15°), bis auf 10 ccm und mehr $^1/_{10}$ Normalnatron (auf 10 ccm Kulturflüssigkeit) steigend, somit mindestens die Säure der spontanen Gärung erreichend und noch überschreitend.

Kohlsaftgelatine[2]): Auf Gelatineplatte rasch (in 2—3 Tagen bei 15°) zu 1—2 mm Durchmesser haltenden flachen, farblosen, trübglasigen, ausgebreiteten Kolonieen heranwachsend. Weiterhin ohne merkliche Größenzunahme (aufliegende Kolonieen). Strichkultur:

---

1) Soweit solche auf den Platten zur Entwickelung kamen.

2) Kohlsaft 75 ccm, destill. Wasser 125 ccm, Gelatine 5 Proz., für Agar-Kohlsaft 1,25 Proz. Agar.

ebenso schnell zu trübglasigen, saftig-wässerigen, ansehnlichen, langgezogenen Tropfen anwachsend, die bei Aufrechtstellung der Oberfläche nach unten zusammenfließen, wo in der trüb-wässerigen Flüssigkeit allmählich weißgraues Bakteriensediment sich ansammelt, dauernd ohne jede verflüssigende Wirkung. Stichkultur: In wenigen Tagen im ganzen Verlauf des Stiches nach den Seiten ausstrahlend, wolkenartige graue Trübe, später scharfe Linsenform mit deutlich strahligem Gefüge, stets mattgrau, halbdurchsichtig, an der Oberfläche nur geringe Entwickelung (wie Strich). Kein Gas und auch nach 4 Wochen noch keine Spur einer Verflüssigung.

Kohlsaftagar. Nicht merklich von den Gelatinekulturen abweichend, doch minder charakteristisch, kein Gas, Ansäuerung besonders auf Platte deutlich.

Gegen die erzeugte Säure ist die Art gleichfalls sehr empfindlich, schon nach wenigen Wochen sind die Kulturen in Kohlsaft, auf Kohlsaft-Gelatine wie -Agar tot und Abimpfen auf neues Substrat resultatlos. Auch wird die erzeugte Milchsäure nicht wieder zerstört, die Acidität zeigt nirgends Abnahme. — Art der Milchsäure, Optimum der Säuerung sowie des Wachstums überhaupt, bleiben noch festzustellen.

Abgesehen vom kulturellen Aussehen [stets grau-weiß [1])] und Eigentümlichkeiten der Stich- und Strichkulturen erscheint die Art zunächst als ein B. Güntheri Lehm. et Neum., dessen Verhalten auf Kohlsaftnährböden allerdings noch festzustellen wäre. Einstweilen sei sie als besondere Form desselben, als B. Brassicae bezeichnet; durch genauere Untersuchung hoffe ich darauf noch zurückzukommen.

2) Bakterium II (Fig. 2 der Taf. II).

Schlanke feine bewegliche Stäbchen, fast stets einzeln, Dimensionen ca. $4 \times 0{,}6\ \mu$, aërob, Sporen nicht beobachtet. Begeißelung anscheinend peritrich.

In Kohlsaft nach 1—2 Tagen (15°) Trübung, vorzugsweise an der Oberfläche, veranlassend, gelegentlich auch feines Häutchen; keine Gasentbindung, Ansäuerung langsam und schwach, kaum 3 ccm $^1/_{10}$ N.-N. (auf 10 ccm Kultur) erreichend.

Kohlsaftgelatine: Auf Platte gelbliche bis bräunliche nicht verflüssigende Kolonieen, aufliegend sich nicht ausbreitend wie vorige Art, sondern rund tröpfchenförmig, auch nach 5 Tagen nicht über 1 mm im Durchmesser. Strichkultur: orangegelber, langsam wachsender, schwach erhabener, etwas glänzender fester Beleg. Stichkultur: Wächst nur in oberen Teilen (schwach) und an Oberfläche, hier in einigen Wochen eine linsenförmige orange Auflagerung bildend, von der sich ein grauweißer, schwach irisierender Hauch über die Gelatine ausbreitet (ebenso bei Strichkultur). Auch nach Wochen keinerlei Verflüssigungserscheinung, kein Gas.

Kohlsaftagar. Farbe ist hier hellcitronengelb. Sonst wie

---

1) Gelbliche oder gelbbraune Färbung der Vegetation habe ich nie beobachtet, ebensowenig das für B. Güntheri angegebene körnige Wachstum im Gelatinestrich. Ueber Merkmale des B. Güntheri s. Lehmann und Neumann, Bakteriolog. Diagnostik. 3. Aufl. 1904. p. 243; Aderhold, l. c. p. 102; Leichmann, Centralbl. f. Bakter. Bd. XVI. 1894. p. 826. Günther u. Thierfelder, Arch. f. Hyg. Bd. XXIV. p. 614. Bei Aderhold l. c. erhält man gleichfalls eine Vorstellung von den Schwierigkeiten, die der Einreihung solcher Formen entgegenstehen; cf. auch Bujagin l. c.

vorher; in Strichkultur bedeckt sich allmählich die Oberfläche mit dem flachen, saftig glänzenden, gelben Beleg.

Ueber die Zugehörigkeit dieser Form läßt sich ohne genaueren diesbezüglichen Verfolg kaum Genaueres angeben.

VI. Gärversuche mit Reinkulturen.

I. Das Gärvermögen der Hefen.

a) Gärung in sterilem Kohlsaft (unverdünnt). Reagenzgläser mit je 10 cm Saft, Impfung mit Platinöse; Temperatur 12—15°.

	Nach 4 Tagen	Nach 8 Tagen
Hefe I	Inbesondere bei Schütteln reichlich Gasperlen entweichend	Klare helle Flüssigkeit. Weißgrauer sparsamer fester Bodensatz
„ II	Sehr reichliches Emporsteigen kleiner Gasbläschen	ebenso
„ III	wie vorher	ebenso
„ VI	ebenso	ebenso, — (Bodensatz etwas dunkler)
„ VII	ebenso, sehr reichlich	ebenso
„ IV u. V	ohne Gasentbindung, nur Kahmhaut	Kahmhaut

Rund 4 Tage nach dem ersten Auftreten war bei I—III und VI—VII die Gärung beendet; Flüssigkeit jetzt entfärbt (ursprünglicher Saft gelbbräunlich). Hefen IV und V (Kahmhefen) erregen keine Gärung.

b) Gärung in verdünntem Kohlsaft mit 4 Proz. Dextrose. Gärungssaccharometer mit 15 bezw. 20 ccm Flüssigkeit. Impfung durch Platinöse mit Gelatinereinkulturen, 15°.

	Gasmenge nach 2 Tagen	Gasmenge nach weiteren 6 Stunden	Gasmenge nach 3 Tagen	Gasmenge nach 5 Tagen
Hefe I	8 ccm (lebhafte kontinuierliche Gasblasenentwickelg.)	Saccharometerschenkel gefüllt (über 10 ccm, lebhafte Gärung)	gefüllt	Saccharometer gefüllt. Gärung so gut wie beendet (I, II, III, VI, VII)
„ II	0,5 ccm, schwache Gasentwickelung	— 2,2 ccm Gas (schwächer)	5 ccm Gas	
„ III	— „	Saccharometerschenkel gefüllt wie I (lebhafte Gärung)	gefüllt	
„ VI	5 ccm, lebhaftes Gasaufsteigen	ebenso (über 15 ccm Gas, lebhafte Gärung)	„	
„ VII	0	3 ccm (Gasaufsteigen spärlicher)	„	
„ IV	0 (submerse Vegetation)	0	0	Kein Gas (submerses voluminöses Wachstum) (IV, V)
„ V	0 „	0	0	

Hefe I—III und VI—VII schon nach 2 Tagen lebhaft vermehrt, Hauptgärung vom 2. Tage an, besonders Hefe I und VI sehr energisch. Nach 3 Tagen sind die Saccharometerschenkel (mit Ausnahme von II) gefüllt, nach 5 Tagen ist die Gärung bei I, II, III, VI beendet, nur VII noch schwach. Nach 7—8 Tagen überall klare, vergorene Flüssigkeit mit festem Bodensatz grauweißer Hefe. Hefe IV und V (Kahmhefen) keine Spur von Gas, trotz lebhafter hier meist submerser Vermehrung.

c) Gärung in verdünnter Würze (± 15°).

Reagenzgläser mit 10 ccm steriler Bierwürze (1:2 Wasser). Impfung wie vorher.

Hefe	Nach 3—4 Tagen	Nach 6 Tagen
I	Emporsteigen kleiner Gasblasen; Oberfläche mit Schaumbläschen	Gärung beendet; klare Flüssigkeit über festem grauen Bodensatz
II	ebenso; beim Schütteln lebhafte Gasentbindung	ebenso
III	Gasbläschen nur beim Schütteln	ebenso
VI	kontinuierliches Aufsteigen von Gasbläschen vom 2.—5. Tage	ebenso

Die am 2.—3. Tage einsetzende Gasentbindung vollendet sich also in ca. 3 Tagen; die geringere Intensität in diesen Versuchen deutet darauf, daß nur ein Teil der Würzebestandteile vergoren wird. Hefe IV und V (Kahmhefen) waren auch hier ohne Gärwirkung, nur Kahmhaut und voluminöse submerse Vegetation bildend.

II. Das Säuerungsvermögen der Bakterien (± 15°).

a) Bacterium I. Reinkulturen in Kohlsaft unverdünnt oder verdünnt mit Dextrosezusatz (ca. 4 Proz.). Je 5 ccm für die einzelnen Titrierversuche vorsichtig entnommen; die Angaben in $^1/_{10}$ N.-N. beziehen sich auf 10 ccm.

No. u. Alter der Kultur	Verbrauch von $^1/_{10}$ N.-N. auf 10 ccm Kulturflüssigkeit	Bemerkungen
1) 7-tägig	15,2 ccm	reiner Kohlsaft
2) 16 „	3,57 „ [1]	
3) 20 „	schwach (oder Spur[1])	
3) 63 „	8,2 ccm	
4) 9 „	8,6 „	Kulturflüssigkeit mit Dextrosezusatz Diese 3 Titrierungen mit ein und derselben Kultur
4) 12 „	9,6 „	
4) 24 „	9 „	
5) 24 „	8,4 „	Mit Dextrosezusatz; Parallelkultur zu No. 4
5) 43 „	10,1 „	
6) 16 „	10 „	reiner Kohlsaft

Die mittlere Acidität stellt sich also auf 9,1 (8,2—10,1) ccm $^1/_{10}$ N.-N.

1) Befriedigende Erklärung für diese schwache Säuerung kann ich nicht geben; auch No. 1 weicht stark ab; derartiges kommt also gelegentlich vor.

b) Bacterium II. Reinkulturen in Kohlsaft (wie vorher). Je 5 ccm der Kulturflüssigkeit für die einzelnen Titrierversuche.

No. u. Alter der Kultur	Verbrauch von $^1/_{10}$ N.-N. auf 10 ccm Kulturflüssigkeit	Bemerkungen
1) 12-tägig	2,4 ccm	Mit Dextrosezusatz wie vorher; beide Titrierungen mit derselben Kultur
24 „	2,5 „	
2) 18 „	2,8 „	reiner Kohlsaft
3) 24 „	3,7 „	Dextrosezusatz; Parallelkultur zu No. 1 (dieselbe Kultur titriert)
43 „	2,1 „	

Das Säuerungsvermögen der Art ist also gering, (Kohlsaft für sich titriert verlangte weniger als 1 ccm $^1/_{10}$ N.-N.), die Acidität überschritt nicht 3,7 ccm $^1/_{10}$ N.-N., bewegt sich im allgemeinen aber zwischen 2,1—2,8 ccm $^1/_{10}$ N.-N.

III. Gärung und Säuerung sterilen Kohlensaftes bei Doppelimpfung mit Hefe und Bakterien (± 15°).

Je eine der Hefen mit einem oder beiden Bakterien in 20 ccm sterilen unverdünnten Saft (oder verdünnten Saft mit Dextrosezusatz) geimpft (Platinöse-Aussaat).

Impfung mit	Nach 3—4 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 8 Tagen	Acidität von 10 ccm Flüssigkeit in $^1/_{10}$ N.-N. nach
1) Hefe II + Bact. I	Kontinuierl. Aufsteigen von Gasbläschen v. Boden aus; Flüssigkeit getrübt, Bodensatz	Gasentbindung dauert noch an	Gasentbindung beendet, beginnende Klärung der Flüssigkeit von oben ab.	11 Tg. = 11,6 ccm 56 „ = 14,8 „
2) Hefe I + Bact. I	Wie No. 1	Gasentbindung merklich lebhafter als in No. 1	Noch andauernde Gasentbindung, an der Oberfläche Schaumbläschen.	11 „ = 8,2 „ 56 „ = 10 „
3) Hefe I + Bact. II	Keine Gasentbindung, nur Trübung	Kein Gas, Trübung, zumal an Oberfläche	Kein Gas, Trübung, besonders Oberfläche, wo etwas Häutchenvegetation.	11 „ = 3,2 „ 56 „ = 3,9 „
4) Hefe II + Bact. I (Zusatz von ca. 4 Proz. Dextrose)	Lebhaftes Aufsteigen von Gasbläschen (bereits vom 2. Tage ab), Trübung	Gasentbindg. seit 5. Tage beendet, bereits halb geklärt	Fortgeschrittene Klärung.	7 „ = 7,57 „ 22 „ = 7,2 „
5) Hefe III + Bact. I + Bact. II (Zusatz von 4 Proz. Dextrose)	Kontinuierl. Gasentbindung	Kontinuierliche Gasentbindung andauernd.		22 „ = 8,3 „ 44 „ = 11,4 „

Die Ansäuerung mit Bacterium I bewegt sich also zwischen 8 und 14,8 ccm $^1/_{10}$ N.-N. (in 11—56 Tagen), die Säure verschwindet nicht, sondern nimmt zu, indes die Gasentbindung durch die Hefen nach 1—2 Wochen aufhört. Bacterium II scheint allein für sich direkt hefeschädigend zu wirken.

Die Ansäuerung des sterilen Kohlsaftes durch das Bacterium I allein wie durch gleichzeitige Beimpfung mit einer der Hefen erreicht also denselben Grad wie bei Eintritt der spontanen Krautsäuerung; es ist kein Zweifel, daß auch diese im wesentlichen durch das Bacterium I bewirkt wird. Interessant zu sehen ist es, wie sich Hefe und Bakterium gleichsam in den vorhandenen Zucker teilen, er also keineswegs allein von der Hefe verzehrt wird. Gas, Alkohol und Milchsäure sind bei Zusammenarbeiten die regelmäßigen Produkte; fehlt dagegen die Hefe, so entfällt die alkoholische Gärung, es entsteht im wesentlichen nur Milchsäure, und zwar durchschnittlich auch nicht mehr von derselben als bei Gegenwart der Hefe; diese „entlastet" gleichsam den Saft von dem überflüssigen Zucker, dessen Umwandlung in Milchsäure durch die Umstände (Acidität kann nicht wesentlich über 1 Proz. steigen) ausgeschlossen ist. Was über 1—2 Proz. Zucker vorhanden ist, muß im Interesse raschen Verschwindens durch die Hefe zerstört werden, für die Milchsäuregärung kommt es nicht mehr in Frage, sein Persistieren würde nur sekundären Gärungen Vorschub leisten, also die Haltbarkeit gefährden. So sehen wir denn auch bei besonderem Zuckerzusatz keine Zunahme der Acidität.

Die Beschaffenheit des mit Reinkulturen gesäuerten oder vergorenen Kohlsaftes mag noch kurz erwähnt werden. Er ist durch einen zarten feinen, kaum schwach säuerlichen Geruch ausgezeichnet (Spur Essigsäure?). Um eine Nuance zarter scheint er noch bei gleichzeitiger alkoholischer Gärung, hier allein ist er auch reich an Gas, das beim Umfüllen in zahlreichen Perlen entweicht. Auch beim Erwärmen habe ich aus dem nur durch Bacterium I gesäuerten Saft keine oder nur sparsame Gasblasen entweichen sehen. Die bloße Bakteriensäuerung hat also keineswegs eine dem Geruch auffällige störende Säurebildung zur Folge, wie Conrad das für sein Bakterium fand; dies ist eben nicht das der Krautsäuerung. Versuch 5 unter III ergibt außerdem, daß die Gegenwart anderweiter Bakterien — wenigstens des Bacterium II — an dem Resultat nichts Wesentliches ändert; der vergorene saure Saft war auch hier nach 3 Wochen und länger von gleich einwandsfreier Beschaffenheit.

VII. Plattenanalysen säuernder Brühen.

Die nachfolgenden Bestimmungen sollen ein Bild von der allmählichen Aenderung in Zusammensetzung der Brühenflora mit fortschreitendem Alter der Gärung geben. Gleichzeitig ergibt sich daraus die größere Reinheit der Laboratoriumsgärung gegenüber der Fabrikgärung, bei der zumal nach längerer Zeit vielerlei Fremdes gefunden wird. Der Hauptsäuerungserreger verschwindet allmählich (Absterben), die Hefen bleiben, die Gesamtkeimzahl nimmt jedoch stark ab. Das Anwachsen der Fremdvegetation ist vielleicht nur relativ. Langsam wachsende sowie anaërobe Arten sind nicht berücksichtigt. Die Proben aus den Fabrikbottichen wurden 10—20 cm unter der Oberfläche entnommen.

I. 14-tägige Gärung [Laboratorium [1])]. Acidität des Saftes (Maximum) entspricht ca. 13 ccm $^1/_{10}$ N.-N. pro 10 ccm Saft (rund 1,2 Proz. auf Milchsäure berechnet). Mikroskopisch nur ovale Hefe

---

1) Krautgärung in einem 5-Liter-Cylinder (Versuchsreihe 6 oben).

neben unbeweglichen Stäbchen, zu ungefähr gleichen Teilen in außerordentlicher Menge.

Mit 4 Tropfen von 0,5 ccm Brühe (auf 100 ccm verdünnt) wurden 5 Platten gegossen, auf denen nach 3 Tagen (15°) pro 4 qmm durchschnittlich 2 Kolonieen gewachsen waren. Gesamtzahl der Kolonieen annähernd 20—30000, hiernach Keimzahl pro 1 ccm annähernd 50 bis 75 Millionen. 3 Kohlsaft-Gelatine-, 2 Kohlsaft-Agar-Platten, letztere erheblich dichter besäet.

Kolonieen makroskopisch fast ausschließlich zweierlei Art, milchweiß (Hefen) und glasig-hell (Bakterien).

Zu weit mehr als $^9/_{10}$ bestanden sie aus Bacterium I und Hefen.

Die Agarplaten schon nach 3 Tagen deutlich lackmusrötend, oberflächliche Kolonieen bis 1 mm Durchmesser, noch nach 2 Wochen gut erhalten. Die Gelatineplatten später zerfließend (vereinzelt Bacterium vulgare und Penicillium). Genaueren Verfolg schloß die dichte Lagerung aus.

II. 24-tägige Gärung (noch im Gang befindliche Fabrikgärung), Brühenacidität 9,2 ccm $^1/_{10}$ N.-N. auf 10 ccm, mikroskopisches Bild dem vorigen ähnlich. Angelegt 4 Kohlsaft-Gelatineplatten mit 1 Tropfen[1] der 500-fachen Verdünnung von 1 ccm (15°). Rasches Wachstum wie vorher, Kolonieen mannigfaltiger, doch in der Hauptsache wie bei I, schon nach 3—4 Tagen greifen verflüssigende Arten um sich, nach 5 Tagen alle Platten bis auf Reste verflüssigt; pro Quadratcentimeter wurden gezählt = 10—20 Kolonieen. Kolonieenzahl pro Platte ca. 1000, in Summa ungefähr 4000, Keimzahl hiernach ca. 50 Mill. pro Kubikcentimeter — Organismen:

Bacterium I } Hauptmasse der Kolonieen
Hefen }
Bacterium II (vielfach)
Bacterium vulgare (mehrfach)
Penicillium und Oidium vereinzelt
Einzelne „Rosahefe", weiße Kahmhefe u. a.

III. 40-tägige Gärung (Fabrikgärung), Brühenacidität 8,8 ccm $^1/_{10}$ N.-N. auf 10 ccm, mikroskopisches Bild ähnlich vorigem. Angelegt 3 Kohlsaft-Gelatineplatten mit Brühenmenge wie in II, 15°; lieferten nur sparsame Kolonieen, pro Platte ca. 100, in Summa rund 300, vorwiegend Hefen; genauer:

Hefen, Hauptanteil }
Bacterium II, häufiger } zusammen ca.
Bacterium I, vereinzelt, ca. 10 pro Platte } ± 40 Kolonieen
Weiße Kahmhefe, vereinzelt } pro Platte
Schimmelkolonieen (Penicillium insbes.) 30—40 pro Platte
Bacterium vulgare, 20—30 pro Platte

Gegen die jüngere Gärung tritt hier also insbesondere auch das Bact. I stark zurück, die eigentlichen Gärungserreger sedimentieren sich, die Brühe wird relativ reich an Verunreinigungen (Bact. vulgare, Penicillium). Keimzahl ± 4 Mill. pro Kubikcentimeter, wovon mehr als 50 Proz. Fremdes.

VIII. Die Zersetzung freier Milchsäure durch die Kahmorganismen[2].

Die Versuche wurden teils mit dem im alten Saft vorliegenden Organismengemisch, teils mit Reinkulturen der isolierten Arten — von denen

1) 25 Tropfen auf Pipette von 1 ccm.

2) Eine frühere kurze Mitteilung über diese Versuche machte ich in Ber. Botan. Ges. 1903. p. 67.

Oidium sowie zwei Kahmhefen und eine Alkoholhefe geprüft wurden— angestellt. Diese wurden auf fast entsäuerte, mit Alkali neutralisierte, filtrierte, sorgfältig sterilisierte alte Krautbrühe, welche einen Zusatz von 1 ccm konzentrierter Milchsäure (chemisch rein) auf 100 ccm erhielt, abgeimpft. Wachstum bei ± 15° im Glaskolben unter Watte.

Versuch No. 1, 40 ccm sterile Sauerkrautbrühe, 0,4 ccm konzent. Milchsäure (1 Proz.) } geimpft mit Oidium
„ „ 2, ebenso }
„ „ 3, „ Impfung mit Kahmhefe I (von Gelatinekultur)
„ „ 4, „ „ „ „ II „ „
„ „ 5, „ „ „ Hefe I (von Kohlsaftkultur)
„ „ 6, 100 ccm alte, nicht sterilisierte Krautbrühe in weiter, 20 cm im Durchmesser haltender bedeckter Glasschale sich selbst überlassen. Zusatz von 1 ccm Milchsäure
„ „ 7, 50 ccm desgl. mit 0,5 ccm Milchsäure (1 Proz.), offener Glaskolben (Erlenmeyer-Kolben)
„ „ 8, ebenso (gewöhnlicher Glaskolben).

Schon nach 3 Tagen ist Oidium in den Reinkulturen zu einer zarten Haut ausgewachsen, No. 7 und 8 enthalten derbe weiße Pilzdecken, No. 6 zarte Oberflächenvegetation von Oidium und Hefen. Die Kulturen der Hefen No. 3—5 noch ohne auffällige Entwickelung.

a) 7 Tage nach Versuchsbeginn ist in No. 6 und 7 die freie Säure ganz, in No. 8 bis auf Spuren verschwunden. No. 6 reagiert bereits deutlich alkalisch, No. 7 neutral. Die Oberflächenhaut von No. 6 ist (gegenüber der derben weißen Pilzdecke von No. 7 und 8) zart; sie besteht vorzugsweise aus einer ovalen Kahmhefe (anscheinend No. II), mit eingestreuten kleineren Bezirken von Oidium, Oberfläche letzterer mehlig, ersterer matt, glatt oder gefaltet. — No. 1 und 2 haben weiße, fädige Oidium-Decken, No. 3 und 4 gefaltete, weißgraue Kahmhäute, bei 3 mehr weiß, bei 4 matter im Aussehen, glasig. No. 5 hat keine merklichen Spuren von Vegetation. In allen diesen sind in der Flüssigkeit schwimmende Lackmusstreifen noch rot.

b) 3 Tage später ist auch in No. 1—4 die Säure völlig verschwunden, die Flüssigkeiten bläuen jetzt rotes Lackmus. Nur No. 5 unverändert sauer und vegetationslos.

c) Nach Verschwinden der Säure erhielten No. 6—8 einen neuen Zusatz Milchsäure und zwar No. 6 1 ccm (außerdem 20 ccm Wasser aufgefüllt), No. 7 und 8 je $^{1}/_{2}$ ccm; gleichzeitig wurde No. 7 in den Brütschrank (33° C) gestellt, um den Wärmeeinfluß zu prüfen. Nach 4 Tagen reagierten noch alle lackmusrötend, gleichzeitig war die Oidium-Decke im Brütschrank bis auf Reste zerfallen. 10 Tage nach Versuchsbeginn war No. 6 ganz säurefrei, No. 7 ebenso, während No. 8 noch Lackmus schwach rötet. — Beachtenswert ist, daß in den Decken dieser nicht mit steriler Brühe angesetzten Versuchsnummern jetzt Penicillium aufzukommen beginnt und Oidium zurücktritt; im Brütschrank (No. 7) eine fast reine grüne Decke von Aspergillus fumigatus entstanden.

Versuch No. 9. 200 ccm alte, schwach alkalische Krautbrühe (unsterilisiert), mit 2 ccm konzentrierter Milchsäure versetzt. Offener Erlenmeyer-Kolben mit ca. 2,7 cm hoher Flüssigkeitsschicht.

Nach 4 Tagen kontinuierliche weiße Oidium-Decke, Flüssigkeit noch lackmusrötend. Nach 8 Tagen fast neutral; die Säure ist also innerhalb 8 Tagen nahezu völlig zersetzt.

Die zugesetzte Milchsäure (1 Proz.) wird also durch die beiden Kahmhefen sowohl wie durch Oidium — dagegen nicht durch die Al-

koholhefe (S. Brassicae I) — in kurzer Zeit zerstört; in gleicher Weise wirkt das Gemenge dieser Organismen, wie es in nicht sterilisiertem Krautsaft vorliegt.

IX. Zusammenfassung.

Die einzelnen Punkte ergeben zusammengefaßt folgendes:

1) Frisches Weißkraut stirbt bei Luftabschluß unter Wasser) binnen 3 Tagen ab (± 15°), die wäßrige Flüssigkeit unterliegt der sauren Gärung durch Bakterien und Hefen, die in ihrer Art von der des Krautsaftes nicht wesentlich abweicht (Versuchsreihe 1).

2) Vorheriges kurzes Erhitzen auf ca. 50° ändert daran nichts Erhebliches (Versuchsreihe 2). Sterilisieren (100°) schließt jedoch die Sauerkrautgärung aus, der Saft erleidet dann verschiedenartige Zersetzung durch Pilze, Hefen oder Bakterien (Versuchsreihe 5 B).

3) Frisches Kraut mit 0,13—0,25 Proz. Kochsalz und für Bedeckung erforderlichem Wasserzusatz gerät in 3—4 Tagen in normale Gärung mit gutem Produkt (Versuchsreihe 3 A).

4) Weißkohl mit 0,2 und 0,4 Proz. Kochsalz, aber wenigem, nicht zur Bedeckung genügendem Wasserzusatz gab träge Brühenbildung und trotz Säuerung mißlungene Gärung (Versuchsreihe 3 B): Buttersäure, Verfärben.

5) Vorheriges Ersticken des Kohls gibt sofortige Brühenbildung und auch ohne Salzzusatz normale Gärung (Versuchsreihe 4).

6) Das gleiche leistet eine zum Tode führende Frostwirkung sowohl mit wie ohne Salzzusatz (Versuchsreihe 6 u. 7).

7) Frisches Weißkraut mit 0,25 Proz. Kochsalz und späterem Wasserzusatz ergab erst nach 3—5 Tagen träge Brühenbildung, aber trotz Säuerung mißlungene Gärung.

8) Dasselbe Resultat mit 0,5 Proz. Kochsalz (Versuchsreihe 8 A).

9) Mit 0,25 Proz. Kochsalz (ohne besonderen Wasserzusatz) resultierte keine Brühenbildung (Versuchsreihe 8 B).

10) Mit 1 und 2 Proz. Kochsalz resultiert schnelle Brühenbildung (am 1. Tage) und normale Gärung (Versuchsreihe 8 B), ebenso mit 2 Proz. Chlormagnesium oder Chlorkalium.

Keine Brühenbildung trat dagegen mit 0,5 und 1 Proz. des Gemisches dieser beiden Salze mit Magnesiumsulfat, sowie mit 2 Proz. des letzteren ein, die Gärung mißlang, Verderben der Versuche; (ohne Salz gleichfalls keine Brühenbildung und Gärung, doch wochenlanges Lebendbleiben der Kohlschnitzel).

11) Das Kochsalz hat, abgesehen von der Beschleunigung der Brühenbildung, keinen nachweislichen Einfluß auf den Gärungsverlauf, bewirkt auch keine längere Haltbarkeit des Krautes.

12) Irgendwie erzielter rascher Abschluß des Krautes von der Luft entscheidet — wie auch dem Praktiker bekannt — über das Gelingen der Gärung.

13) Die Gärung ist eine Wirkung bestimmter den Kohlblättern anhaftenden Bakterien und Hefen, erstere bewirken Säuerung (Milchsäuregärung) letztere die gleichzeitige Gasentbindung (Alkoholgärung). Die hauptsächlichste Säuerungsbakterie war in allen beobachteten Fällen ein unbewegliches nicht gasbildendes Bakterium, anscheinend das B. Güntheri Lehm. et Neum. oder doch eine demselben sehr nahe stehende Form, B. Brassicae ad inter. Die Hefen sind verschiedener

Art, durchweg dem untergärigen Typus angehörig. Voraussichtlich können auch andere gleiches leistende Milchsäurebakterien beteiligt sein und je nach Umständen und Verhältnissen mitwirken.

14) Die Kahmhaut (Oidium oder Hefen) zerstört die gebildete Milchsäure wieder; Zusatz von neuer Milchsäure (1 Proz.) erleidet dieselbe Zersetzung. Die Kahmhautpilze (Reinkulturen) verzehren Milchsäure (1 Proz.) ohne Schwierigkeit.

Resumé.

Die Sauerkrautgärung, als lediglich im austretenden Kohlsaft unter Einwirkung der den Blättern anhaftenden Organismen sich abspielender Gärungsvorgang, wird ganz allgemein durch solche Momente eingeleitet, welche den Austritt des Zellsaftes zur Folge haben; Abtöten des Blattes (durch Erhitzen, Frost, Ersticken u. a.) wirkt jederzeit in diesem Sinne, speziell kann das auch durch Einwirkung gewisser Salze erzielt werden, deren Bedeutung dann lediglich in der so bewirkten Beschleunigung des Prozesses liegt.

Obenan steht hier das Kochsalz; die Ergiebigkeit seiner Wirkung ist direkt von der verwendeten Menge abhängig und dementsprechend ansehnlich bei 1—2 Proz., stark abnehmend und ungenügend bei Gaben von 0,5 Proz. und darunter, wo — zunächst gültig für die eingehaltenen Versuchsbedingungen — der faktische Saftaustritt nicht für eine die gesamte Krautmasse sogleich bedeckende Brühenbildung ausreichte, zumal Saftaustritt und Volumenverminderung der (Turgor und Elastizität verlierenden, welkwerdenden und nunmehr unter der Belastung zusammengehenden) Krautmasse Hand in Hand gehen. Im übrigen steht der sogleich eintretenden osmotischen Wirkung des Salzes kein Hindernis im Wege, denn die den frisch geschnittenen Kohlschnitzeln anhaftende Feuchtigkeit (Saft der angeschnittenen Zellen) löst dasselbe sofort, so daß die Schnitzel alsbald mit einer konzentrierten Kochsalzlösung überzogen sind. Ein sehr hygroskopisches Salz wirkt also — entgegen der in der Praxis verbreiteten Meinung — auch nicht besser (Chlormagnesium), in Frage kommt hier allein das osmotische Vermögen desselben. Für die resultierende Höhe der Saftschicht ist allerdings noch sonst mancherlei maßgebend, in engen hohen Gefäßen ist sie beträchtlicher, wie überhaupt niedrige weite Gefäße oder ebensolche Füllungen, als niedrige Flüssigkeitsschichten gebend, möglichst zu vermeiden sind.

Nur wo das Kraut alsbald völlig von der Brühe bedeckt wird, ist man gegen unreine Gärung gesichert. Das ist in der Praxis sehr wohl bekannt, auch durch einige der obigen Versuche treffend illustriert; bei ungenügender oder zu spät beendeter Brühenbildung folgt allemal ein Verfärben ins Gelbe unter Auftreten von Buttersäure, und das ist, so gut die Säuerung auch sonst fortschreitet, überhaupt nicht zu reparieren. Diese Beziehung ist nicht ohne Interesse, man sieht eigentlich nicht recht, weshalb nun gerade Ueberschichten der Kohlschnitzel mit Flüssigkeit reine Milchsäuregärung, ein teilweises Freibleiben dagegen auch Buttersäuregärung nach sich zieht; es erscheint um so auffälliger, als ganz von Salzzusätzen und Saftaustritt freibleibende Schnitzel unter sonst den gleichen Bedingungen wochenlang haltbar sind, d. h. ohne nennenswerte Veränderung frisch und lebend bleiben.

Daß der Wert einer möglichst raschen und völligen Saftabscheidung tatsächlich in der dadurch bewirkten Bedeckung der Schnitzel (Luftabschluß) liegt, geht aus der Tatsache hervor, daß wir sie durch Wasser-

zusatz ergänzen oder mit gleichem Resultat ersetzen können. Durch Ueberschichten mit Wasser unterliegt der geschnittene Weißkohl der gleichen Gärung und diese Versuche weisen auch auf einen Punkt hin, der bei Erklärung der Sauerkrautgärung nicht übersehen werden darf: An die erste Brühenbildung muß sich notwendig als durch diese eingeleitet die zweite Phase des Vorgangs, das Absterben der vorderhand noch lebenden Blattzellen schließen [1]), denn erst hierdurch wird die Summe der Saftbestandteile dem Gärungsprozeß zugänglich. Es wirkt dabei das Salz als in dieser Konzentration nicht plasmaschädigendes Moment kaum direkt mit, jedenfalls leistet das aber das „Ertränken" unter Flüssigkeit, d. h. Abschluß von der Luft, denn selbst in reinem Wasser blieben, wie oben gezeigt, frische Schnitzel nicht länger als ca. 3 Tage (bei ca. 15° C) am Leben. Damit erst beginnt dann ein lebhafter Austritt der gelösten Zellinhaltsstoffe und dementsprechend setzte auch jetzt bei Versuchen selbst mit sehr geringen Salzdosen (Reihe 3) normale Gärung ein, sofern nur für Ueberschichten der Schnitzel durch Wasser Sorge getragen war; nicht etwa die Anwesenheit des Kochsalzes, sondern der Luftabschluß ist hier anstoßgebend, denn einmal wird trotz des Salzes bei ungenügender Wassermenge die Gärung unrein, auf der anderen Seite zeigen aber die gelungenen salzfreien Gärversuche mit vorher getötetem Kraut offenkundig, daß nicht das Salz das Gelingen der Gärung bedingt.

Es ist wahrscheinlich, daß bei Versuchen in großem Maßstabe (Fabrikgärung) Saftbildung und Absterben der Kohlblätter sehr nahe beieinander liegen; in der Tiefe der festgepreßten Krautmasse müssen auch ohne besondere durch Salz bewirkte Brühenbildung die Lebensbedingungen sehr rasch ungünstig werden (Sauerstoffmangel, Kohlensäureansammlung, Wärmebildung) und dieses reichlichen Saftaustritt aus den absterbenden Zellen nach sich ziehen; es fragt sich überhaupt, ob nicht dies Moment allein ausreichte, somit die Salzwirkung auch da zu entbehren wäre.

Sicher wäre das der Fall, wenn wir im Besitz eines die Zellen rasch abtötenden Mittels wären, das leicht anwendbar, wohlfeil und auch sonst nicht abändernd auf den Erfolg einwirkte; Erfrieren oder Ersticken wäre da der Wärmewirkung mit Rücksicht auf die Mikroorganismen offenbar vorzuziehen und ist auch nach Ausweis der Versuche von gutem, nicht durch Nebenwirkungen gestörten Erfolg. Beachtet man die Tatsache, daß in der Praxis vielfach mit nur $^1/_2$ Proz. Salz und selbst noch weniger gearbeitet und so trotzdem eine prompte Saftbildung erzielt wird, während für unsere Versuche im Kleinen diese Dosis unzureichend war, so wird da das Mitspielen zellenschädigender Momente (Sauerstoffmangel u. a.) allerdings sehr wahrscheinlich und die Brühenbildung wäre hier mindestens als kombinierte Wirkung — deren Beschleunigung durch größere Salzgaben im übrigen ja selbstverständlich ist — aufzufassen; unter besonderen daraufhin gewählten Verhältnissen wird sie zweifellos auch ohne jeden Salzzusatz ebenso prompt vor sich gehen.

Als gegeben müssen wir die Tatsache hinnehmen, daß der Zellsaft des Kohls — vorausgesetzt, daß er nicht sterilisiert wurde — mit fast absoluter Sicherheit in milchsaure Gärung übergeht; das ist nicht anders

1) Das muß notwendig auch für die Gurkensäuerung als Bedingung für die Exosmose der Saftbestandteile in Frage kommen, doch scheint Aderhold diesen Punkt nicht scharf hervorgehoben zu haben.

als beim Säuern der Milch, der Hefenmaische, Kleienbeize, Weizenbrühen und ähnlichen Vorgängen. Hier ist mehr die niedere Temperatur (5 bis 10 °), trotz deren der Prozeß eintritt, auffällig, sicher soll man darin aber nicht zu weit gehen.

Es liegt vielleicht nahe, dem Kochsalz noch anderweitige Wirkungen zuzuschreiben, sein bestimmender Einfluß auf mikrobiologische Zersetzungen, zumal von eiweißartigen Stoffen, ist ja bekannt (Heringslake, Eiweißfäulnis)[1]. Hierzu ist aber nach Ausweis der Versuche — soweit sie da zu Schlüssen zu verwerten sind — eigentlich kein Grund vorhanden, an sich ist ja schon die Konzentration von $^1/_2$—1 Proz. sehr gering; die Organismen scheinen die gleichen zu bleiben, auch Säuerung wie Entsäuerung zeigen bei den Versuchen mit oder ohne Salz keine greifbaren Unterschiede, selbst die 10fache Gabe (2 gegen 0,13 Proz.) scheint ohne Einfluß. Eine geringe Differenz im Geruch der gärenden Masse ist wohl praktisch bedeutungslos, zu prüfen wäre vielleicht noch die Haltbarkeit des salzfreien Sauerkrautes mit Rücksicht auf ein etwaiges Weichwerden der „Faser“[2]. Stärkere Kochsalzlösungen sind da allerdings von Einfluß, indem sie den breiigen Zerfall (Maceration) des Blattes trotz der auch hier reichlichen Mikroorganismenvegetation verhindern, das Blatt bleibt lederig-elastisch. Darauf beruht aber die rein empirische Wertschätzung des Salzes für die technische Gärung schwerlich, denn auch die Faser des mit ± 1 Proz. gesalzenen Sauerkrauts zerfällt schließlich nach Verschwinden der Säure faulig. Daß unter besonderen Umständen dem Salz ein bestimmender Einfluß auf die Art des Zersetzungvorganges im einzelnen zukommt[3], ist damit noch nicht ganz ausgeschlossen, zu konstatieren ist das aber schwer und jedenfalls kann $^1/_2$ Proz. die Buttersäuregärung nicht verhindern.

Daß die Gegenwart des Kochsalzes für Anwachsen und Abnehmen der Säure so gut wie garnichts ausmacht, mag noch folgende Zusammenstellung von Aciditätsbestimmungen zeigen:

Salzgehalt	Acidität in $^1/_{10}$ N.-N.						Zusammengehörige Vers.
	nach 5 Tagen (bezw. 6 oder 7 Tagen)	nach ca. 10 bis 12 Tagen	nach 14 bis 19 Tagen	nach 20 bis 24 Tagen	nach 33 Tagen	nach 50 Tagen	
0,25 Proz.	7	7,5 (10 Tg.)	3 (17 Tg.)	0 (24 Tg.)	—	—	⎫
0,13 „	5	10 (10 Tg.)	4 (17 Tg.)	0 (24 Tg.)	—	—	⎭
0,42 „	6,2 (n. 7 Tg.)	9 (12 Tg.)	8,8 (19 Tg.)	5,8 (24 Tg.)	6,8	Spur	⎫
0,215 „	5,4 („ 7 „)	9 (12 „)	9,2 (19 „)	7,0 (24 Tg.)	9	stark buttersauer	⎭
2,0 „	8,5 („ 6 „)	6 (11 „)	3,8 (14 „)	—	0	0	⎫
1,0 „	9 („ 6 „)	6,6 (11 „)	4,2 (14 „)	—	4	0	⎭
0 „	9 („ 6 „)	5 (11 „)	6 (14 „)	0			⎫
1,0 „	10,5 („ 6 „)	7 (11 „)	7 (14 „)	0 oberflächl.			⎬
0 „	9 („ 6 „)	6 (11 „)	6 (14 „)	0			⎭
0 „	10,2 („ 3 „)	11,6 (12 „)	13,4 (16 „)	6,4 (25 Tg.)			
1,0 „	—	8	4,4 (15 „)	5,2 (20 „)	0	—	⎫
0,5 „	—	7 (12 „)	5,6 (15 „)	2,8 (20 „)	0	—	⎭

1) Albuminlösungen gehen bei Kochsalzzusatz nicht in faulige Gärung über, wie ich schon früher mitteilte (Abhandl. d. Deutschen Seefischereivereins. Bd. III. 1898. p. 5).

2) Durch den Versuch der Reihe 6, welcher bis 1905 weitergeführt wurde, scheidet auch diese Möglichkeit aus; salzfrei eingemachtes Kraut wird, solange die Säure noch vorhanden, nicht weich.

3) Es mißlingt die Gurkensäuerung nach Aderhold (l. c.) beim Fortlassen des Kochsalzes; 4—6 Proz. erwiesen sich hier am günstigsten.

Von dem Schwanken der Zahlen überhaupt abgesehen, ergibt selbst die Betrachtung der untereinander vergleibaren Versuche nichts für einen deutlichen Salzeinfluß; für Milchsäuregärung wie milchsäurezersetzende Wirkung der Kahmvegetation muß das Kochsalz als belanglos angesehen werden.

Das Aciditätsmaximum wird unter den eingehaltenen Bedingungen (Temperatur) — je nach der einzelnen Versuchsreihe — bald in der ersten, bald in der zweiten, ausnahmsweise in der dritten Woche erreicht, nach 4—5 Wochen ist die Säure im allgemeinen aus dem Saft wieder total verschwunden (Ausnahme Buttersäure!) und nur noch in der das Kraut durchtränkenden Flüssigkeit vorhanden. Ein solch rascher Wechsel vollzieht sich in der meist bei niedrigerer Temperatur und mit ungleich größeren Flüssigkeitsmengen (auch im Verhältnis zur Oberfläche) arbeitenden Praxis natürlich nicht, allein die Ansäuerung zieht sich hier Wochen, unter Umständen Monate hin. Unsere Versuche entsprechen gleichsam einer „Schnellgärung" unter für Säuerung wie Entsäuerung sehr günstigen Umständen, geben im übrigen das Bild der Krautgärung hinreichend richtig wieder.

Daß aber auch in der Praxis voluminöse Kahmbildungen nicht zu dulden sind, steht fest; sie sind zu entfernen. Vorzubeugen ist ihnen durch möglichste Beschränkung der freien Oberfläche. Ob dabei Oidium oder ob Kahmhefen die Oberhand bekommen, scheint mehr Zufallssache, die Versuche ergeben da ein unbestimmtes Schwanken: bald fast reine Hefedecken, bald ebensolche von Oidium, bald wieder Gemische; offenbar kommt es bei dem Ausfall der Konkurrenz auf noch nicht genügend bekannte Momente an, immerhin scheint bei höheren Wärmegraden Oidium zu siegen, das im gärenden Saft selbst als normaler Bestandteil sonst nicht in Frage kommt, während die beiden Hefen des Kahms nach allem auch Brühenbewohner sind und selbst als von der Luft abgeschlossener Bodensatz (Reinkulturen in Würze) sich lebhaft vermehren.

Ob es für die Qualität des Krautes nun ganz gleich ist, ob Hefe oder ob Oidium-Decke entsteht, ist wohl mehr eine nebensächliche praktische Frage, die nicht ohne weiteres zu entscheiden ist. Voraussichtlich bilden die Organismen auch verschiedenartige Nebenprodukte, die da also in betracht kommen.

Sicher hat aber die Frage nach dem Einflusse auf die Krautqualität Bedeutung für die Hauptflora der Brühen, also Hefen und Milchsäurebildner, von denen ja zweifellos mehrere in betracht kommen. Die Vorstellung, daß die Sauerkrautgärung ebenso wie Wein-, Bier-, Essig-, Spiritusgärung und andere, durch eine Anzahl verschiedener Arten oder Formen von Mikroorganismen mit sehr ähnlichen Ansprüchen und Leistungen bewirkt wird, bietet nichts Befremdendes, dann liegt aber auch der Gedanke an den durch eine besondere Auswahl solcher sich eventuell ergebenden Nutzen für Prozeß wie Fabrikat nahe, dessen Durchführung freilich eine wesentliche Vervollkommnung der alten rohen Arbeitsweise voraussetzt, die bei dieser zwar wichtigen, aber sehr wohlfeilen Handelsware allerdings gewisse Schwierigkeiten hat.

Ob die mikroskopische Kohlflora zu allen Zeiten oder an den verschiedenen Lokalitäten die gleiche ist, bleibt noch festzustellen, man würde so vielleicht Qualitätsunterschiede der Sauerkrautarten verschiedener Provenienz (westfälisches, rheinisches, Magdeburger, süddeutsches) von der Zusammensetzung derselben mit abhängig machen können.

Uebersicht der Versuche.

A. Je 5 kg Weißkohl, geschnitten, mit verschiedenen Salzen angesetzt (Gärkübel).

No.	Salzzusatz	Eintritt der Brühenbildung	Eventueller Wasserzusatz	Resultat nach 5 Wochen: Brühen: Geruch	Brühen: Reaktion	Krautbeschaffenheit	Gärungsverlauf
1	0	0	0	—	—	meist wohlerhalten (weiß, saftig), frisch, zum kleinen Teil gefault (keine Sauerkrautgärung)	
2	0	0	0	—	—	wie oben	
3	Kochsalz 2 Proz. (100 g)	nach einigen Stunden		schwach säuerlich (mit Kahmhaut)	sauer (blaues Lackmus stark rötend)	gut (weiß, hart, von feinem saurem Geruch	normal verlaufende Gärung
4	Kochsalz 1 Proz. (50 g)	einige Stunden später, am 1. Tage		schwach unangenehm (mit Kahmhaut)	sauer, Lackmus sofort rötend	gut (wie No. 3)	normale Gärung
5	Kochsalz 1 Proz. (50 g)					gut (wie No. 3 u. 4)	
6	sogenanntes „Gärsalz" 0,5 Proz. (25 g)	0	2 l	faulig, nach Buttersäure (keine Kahmhaut)	alkalisch, Lackmus schwach bläuend	ungenießbar, übelriechend gelbbräunlich verfärbt	mißlungene Gärung
7	sogenanntes „Gärsalz" 0,5 Proz. (25 g)	0	1 l	wie No. 6	alkalisch wie No. 6	wie No. 6	wie No. 6
8	sogenanntes „Gärsalz" 2 Proz. (100 g)	am selben Tage		schwach buttersäureartig (mit Kahmhaut)	neutral (oberflächlich) bez. sauer	gut, mit Ausnahme d. oberen Schicht, d. weich u. verfärbt ist	normale Gärung
9	Salzgemisch 1 Proz. ($MgSO_4$ krist. 20 g, $MgCl_2$ 10 g, KCl 20 g)	0	2 l	leicht faulig (keine Kahmhaut)	sauer (L. stark rötend)	ungenießbar, gelbbräunlich, weichbreiig	mißlungene Gärung
10	Chlormagnesium 2 Proz. (100 g)	binnen 1 bis 2 Tagen		schwach unangenehm (Kahmhaut)	neutral (oberflächlich) bez. sauer	gut, sauber, weiß und fest	normale Gärung
11	Chlorkalium 2 Proz. (100 g)	innerhalb eines Tages		nicht auffällig (keine Kahmhaut)	schwach sauer (L. schwach rötend)	mäßig, gelbl.-weiß, meist hart, oben weich u. unbrauchbar, unten besser	anscheinend normale Gärung?
12	Magnesiumsulfat 2 Proz. (krist.) (100 g)	erst nach Tagen schwach	1 l	nicht unangenehm (keine Kahmhaut)	stark sauer	ungenießbar (Geruch sauber, aber verfärbt und weich)	mißlungene Gärung

B. Versuche mit verschiedener Salzkonzentration, Aciditätsbestimmungen.

No.	Salzzusatz	Brühenbildung	Etw. Wasserzusatz	Acidität in ccm $^1/_{10}$ N.-Natron auf 10 ccm Brühe nach ca. 6 Tagen	11 Tagen	14 Tagen	17 Tagen	24 Tagen	50 Tagen	Bemerkungen	Verlauf der Gärung	Beschaffenheit des resultierenden Krautes
13 Vers.-Reihe 4 A (Holzkübel)	Kochsalz 2 Proz. (250 g auf 12 kg Kraut)	sofortiger Brühenaustritt durch Ersticken (Salzzusatz nachträgl.)	—	8,5 ccm	6 ccm	3,8 ccm	0 (an Oberfläche!)	0 (33 Tage)	0	gleichzeitige Parallel-Versuche	normal (sehr lebhaft)	von guter Qualität in Aussehen und Geruch (weiss, langfaserig, hart)
14 Vers.-Reihe 4 A (Holzkübel)	Kochsalz 1 Proz. (125 g auf 12 kg Kraut)		—	9,0 „	6,6 „	4,2 „	0 (Oberfläche!)	4 (33 Tage)	0			
15 Vers.-Reihe 4 B (Glascylinder)	ohne Salzzusatz (410 g Kraut)	wie 13 u. 14	—	9 „	5 „	6 „	θ	0	—	d. Kraut stand hier nicht unter Belastung, sondern schwamm in der Brühe	normal	wurde nicht besonders untersucht, war aber nach Aussehen normal
16 Vers.-Reihe 4 B (Glascylinder)	Kochsalz 1 Proz. (12,5 auf 1250 g Kraut)		—	10,5 „	7 „	6 „	θ	0	—			
17 Vers.-Reihe 4 B (Glascylinder)	ohne Salz 1100 g Kraut		—	9 „	6 „	6 „	θ	0 (26 Tage)	—			
18 Vers.-Reihe 8 (Holzkübel)	Kochsalz 0,5 Proz., 25 g auf 5 kg Kraut	erst nach 4 Tagen reichlich	1,5 l	—	—	4,6 „	—	—	—	Parallel-versuche	Fehlgärung	ungeniessbar, doch etwas besser als 19—21
19 Vers.-Reihe 8 (Holzkübel)	sogen. Gärsalz 0,5 Proz., 25 g auf 5 kg Kraut	auch nach 4 Tagen spärlich	1,5 l	—	—	4,4 „	—	—	—			ungenießbar (verfärbt, übelriechend — nach Buttersäure — auch weich)
20 Vers.-Reihe 8 (Holzkübel)	Salzgemisch 0,5 Proz. (s. No. 9) 25 g auf 5 kg Kraut	erst nach 7 Tagen	1,5 l	—	—	3,4 „	—	—	—			
21 Vers.-Reihe 8 (Holzkübel)	sogen. Gärsalz 0,5 Proz. 25 g auf 5 kg Kraut	erst nach 4—5 Tagen	1,5 l	—	—	3,2 „	—	—	—			

22 Vers.-Reihe 3 B (Holzkübel)	Kochsalz (0,43 Proz.) 28 g auf 6,5 kg Kraut	vom 2. Tage ab spärlich, erst nach ca. 4 Tagen besser	1 l	6,2 ccm (nach 7 Tagen)	9 ccm (12 Tage)	8,8 ccm (19 Tage)	5,8 ccm (25 Tage)	6,8 ccm (34 Tage)	0	Parallelversuche	Gärung nicht normal	ungenießbar (verfärbt, weichl., schwach n. Buttersäure riechend)
23 Vers.-Reihe 3 B (Holzkübel)	sog. „Gärsalz“ (0,43 Proz.) 28 g auf 6,5 kg Kraut	wie No. 22	1 l	5,4 ccm (nach 7 Tagen)	9 ccm (12 Tage)	9,2 ccm (19 Tage)	7,6 ccm (25 Tage)	9 ccm (34 Tage)	buttersauer			
24 Vers.-Reihe 3 A (Glascylinder)	sog. „Gärsalz“ (0,25 Proz.) 3,4 g auf 1340 g Kraut	nach 4 Tagen	0,5 l	nach 5 Tagen: 5 ccm	nach 10 Tagen: 10 ccm	—	3 ccm	0	0	Parallelversuche	normale Gärung	Kraut gut (weiß, hart, sauber)
25 Vers.-Reihe 3 A (Glascylinder)	Kochsalz (0,25 Proz.) 3,4 g auf 1340 g Kraut	nach 4 Tagen	0,5 l	7 ccm	7,5 „	—	4 „	0	0			
26 Vers.-Reihe 7 (Holzkübel)	sog. „Gärsalz“ (1 Proz.) 62,5 g auf 6,25 kg Kraut	sofort, Krautschnitzel waren durch Erfrierenlassen getötet	—	—	8 „	4,4 ccm	5,2 „ (nach 20 Tagen	—	0 (nach 36 Tagen)	Parallelversuche	normal, doch schwach	Kraut v. guter Qualität
27 Vers.-Reihe 7 (Holzkübel)	Kochsalz (1 Proz.) 62,5 g auf 6,25 kg Kraut		—	—	7 „	5,6 „	2,8 ccm (nach 20 Tagen	—	0 (nach 36 Tagen)			
28 Vers.-Reihe 6 (Glascylinder)	ohne Salz 3993 g Kraut	sofort, (Brühenaustritt war schon durch Erfrierenlassen vorbereitet)	—	nach 3 Tagen: 8 ccm	nach 7 Tagen: 10,2 ccm	nach 12 Tagen: 11,6 ccm	nach 16 Tagen: 13,4 ccm	nach 22 Tagen: 7,4 ccm	nach 25 Tagen: 6,4 ccm, nach 50 Tagen: 0	noch nach über 2 J. hatte der nicht verdorb. Rest d. Kraut. einen Teil seiner Säure	normal (sehr prompt)	Kraut tadellos, wie 26 u. 27

Tafelerklärung.

Gärraum einer Sauerkrautfabrik (Kempener Sauerkrautfabrik von H. Spelter & Co. in Kempen a. Rh.[1]). Die hölzernen Gärbottiche, in 4 Reihen 6 Stück tief aufgestellt, zeigen in der ersten Reihe die Belastung des Deckels durch Steinmassen zwecks Erzeugung des für das Emportreten der Brühe notwendigen Druckes. Im Hintergrunde ältere, in der Aufarbeitung befindliche Bottiche, deren reifes Kraut direkt auf die Versandttonnen (vorn im Bilde) verpackt wird.

Fig. 1. Mikroskopisches Bild einer gärenden Krautbrühe, Hefen und Milchsäurebakterien. Vergr. ca. 1000.

Fig. 2. Bacterium II, schwacher Milchsäurebildner (s. Text). Reinkultur aus Gelatine-Krautbrühe. Vergr. ca. 1500.

Fig. 3—5. Bacterium I (B. Brassicae) aus Reinkultur. Vergr. ca. 3000. Fig. 3: ältere Krautsaftagarkultur, nur Diplokokken zeigend. Fig. 4: aus junger (1-tägiger) Kultur in Kohlsaft kleine plumpe Stäbchen, meist zu zweien. Fig. 5: aus älterer (mehrwöchiger) Kohlsaft-Dextrosekultur, Kokken bis Kurzstäbchen vielfach in kleinen Verbänden zu 2—4.

Fig. 6—8. Drei morphologisch verschiedene untergärige Alkoholhefen (Reinkultur auf Kohlsaftagar) aus gärender Krautbrühe. Opt. Durchschnitt. Fig. 6: Hefe I (Saccharomyces Brassicae I), kugelig-länglich. Vergr. ca. 1500. Fig. 7: Hefe II (S. Brassicae II), kugelig. Vergr. ca. 1250. Fig. 8: Hefe III (S. Brassicae III), langgestreckt. Vergr. ca. 1400.

Fig. 9—10. Die zwei regelmäßig auftretenden Kahmhefen (Kohlsaft-Agarkulturen). Opt. Durchschnitt. Fig. 9: Saccharomyces Mycoderma I, weiße Kahmhefe, kugelig. Vergr. ca. 1400. Fig. 10: S. Mycoderma II, graue Kahmhefe, ellipsoidisch. Vergr. ca. 1070.

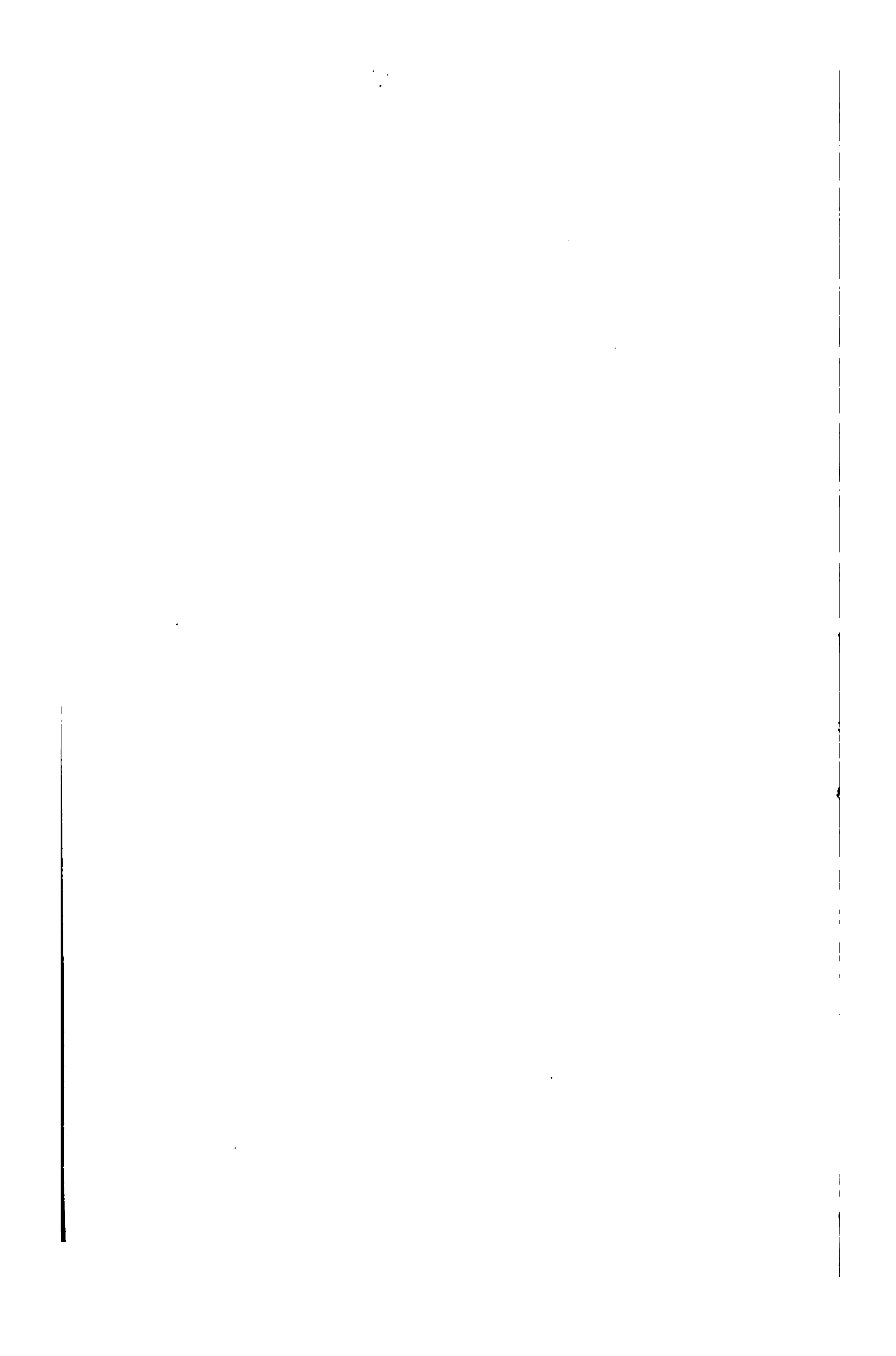
---

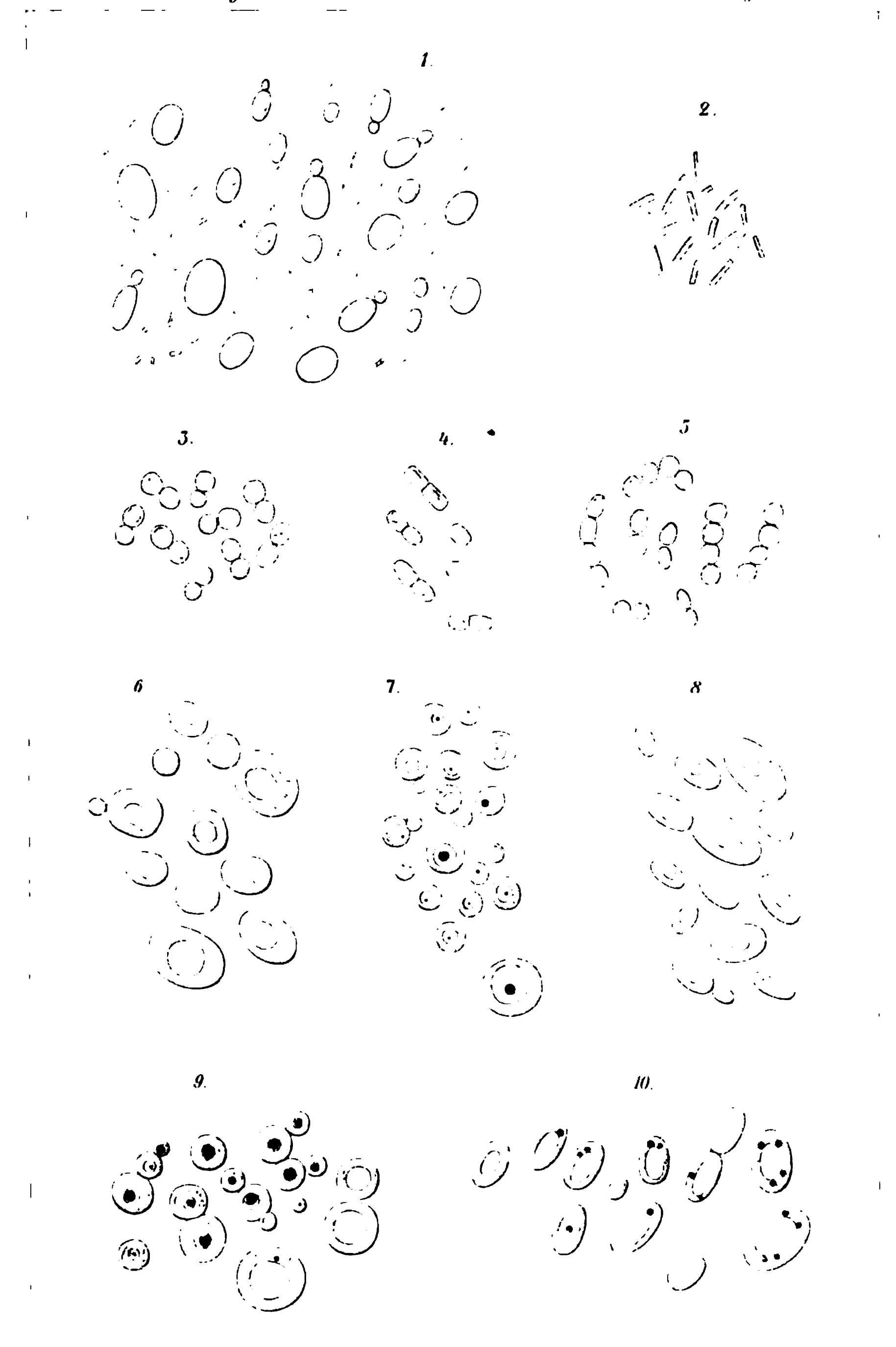
1) Die Inhaber ließen die photographische Aufnahme für diesen Zweck auf meine bezügliche Bitte bewirken.

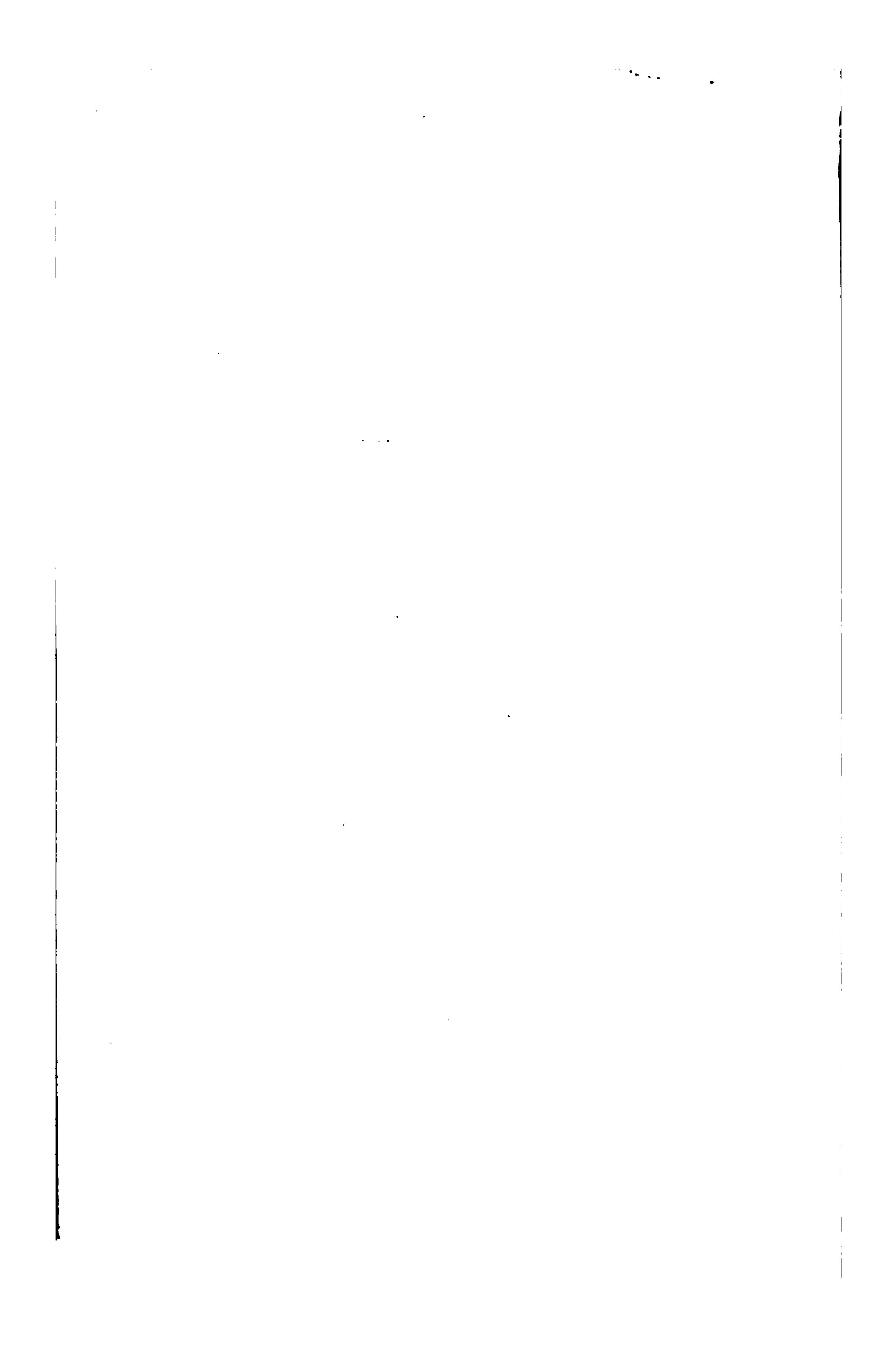
Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.






1.
2.
3.
4.
5
6
7.
8
9.
10.





für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Geh. Reg.-Rat Dr. **Aderhold** in Berlin, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 50, Schaperstr. 2/3 I

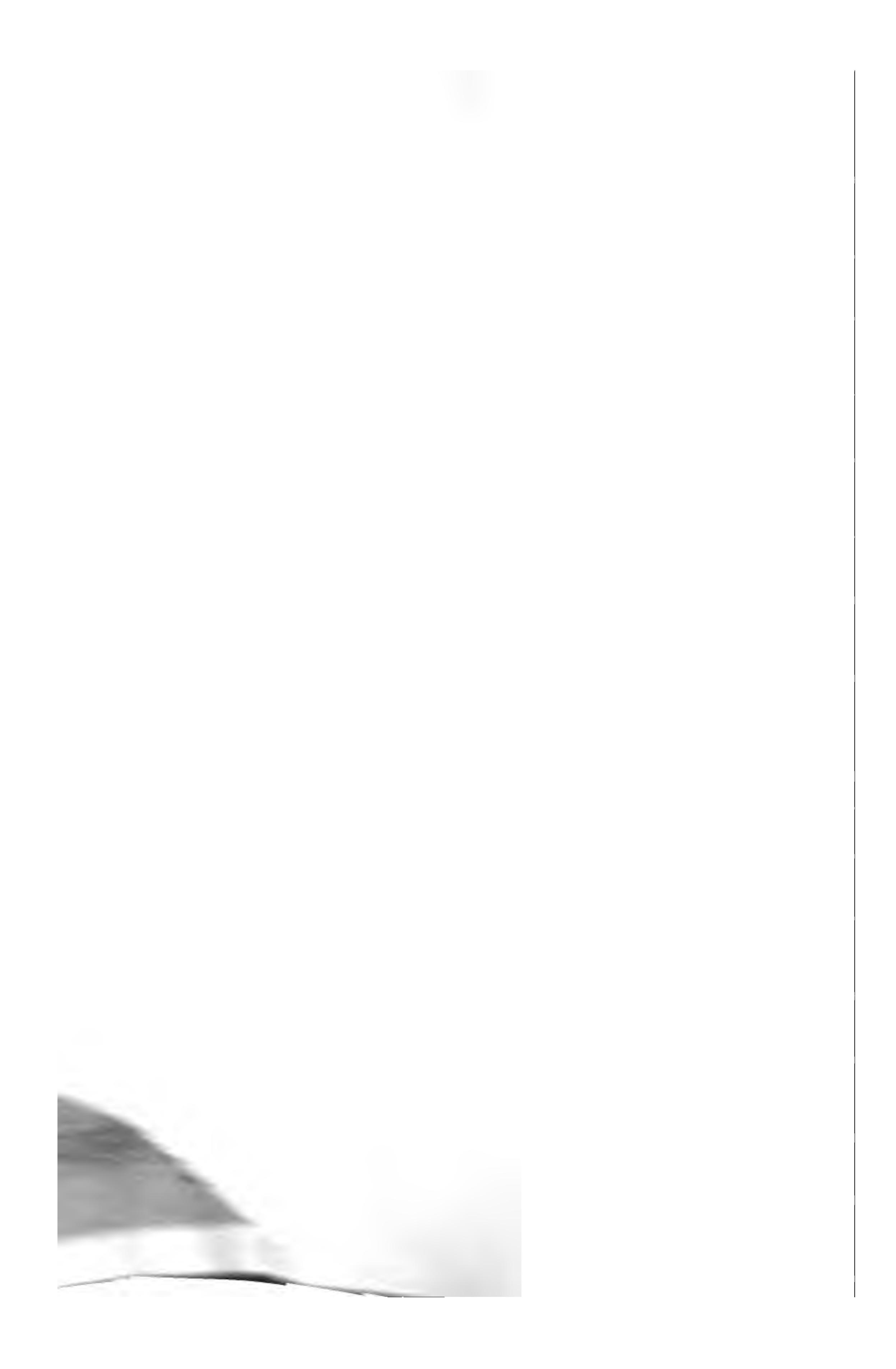
und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XIV. Bd. Jena, den 22. September 1905. **No. 26.**

Inseratenannahme durch die Verlagshandlung.

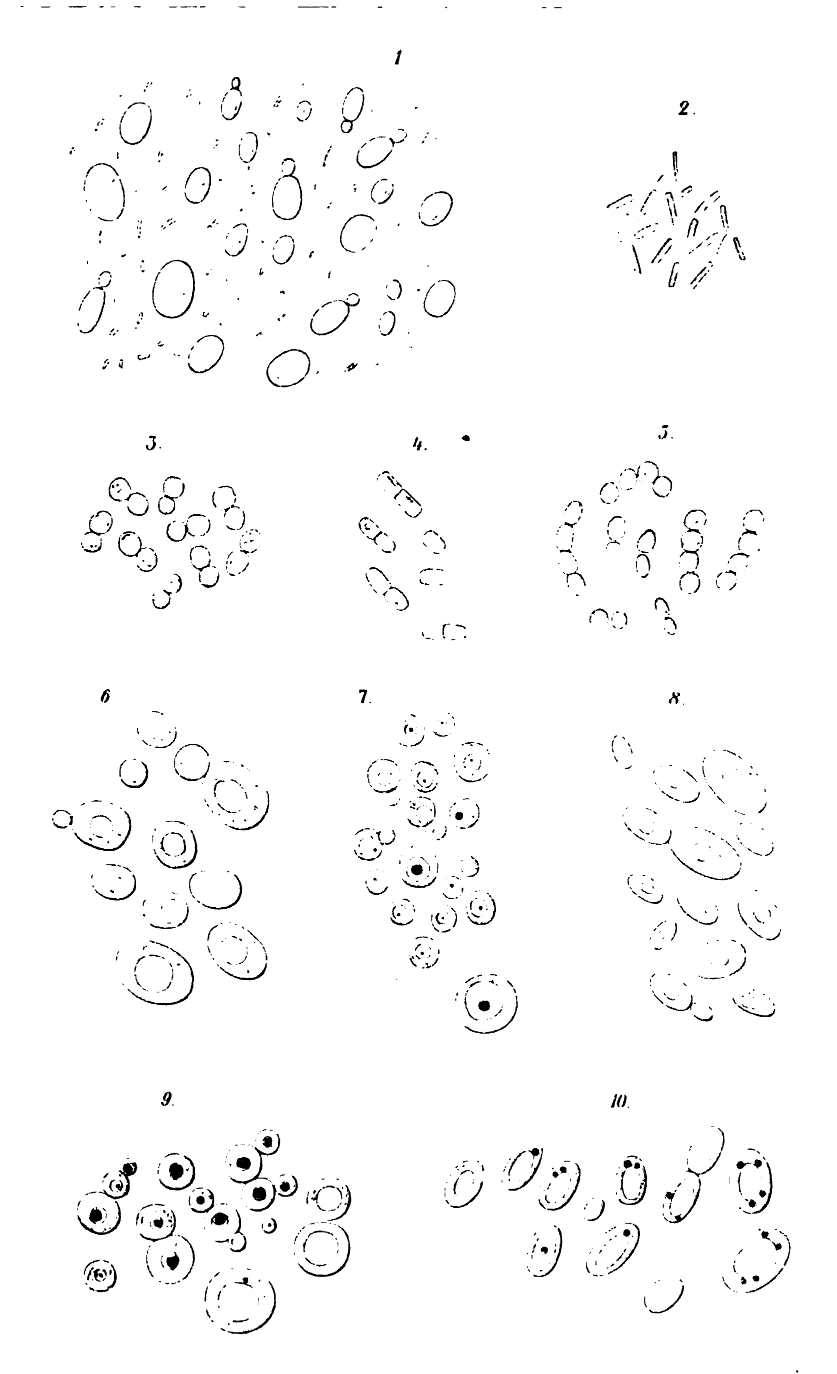


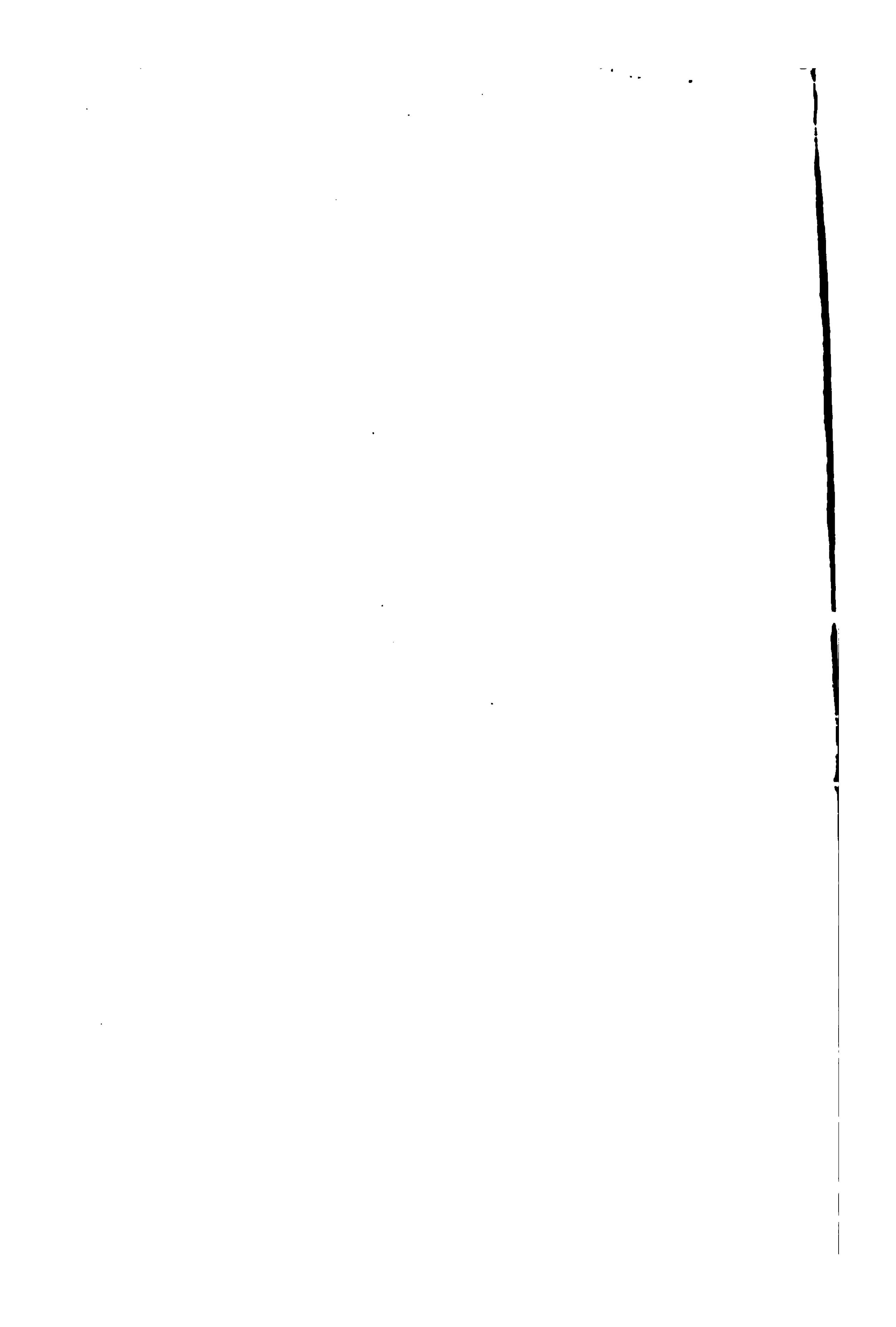
Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 26.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XIV enthaltenen Arbeiten.

II. Namen- und Sachverzeichnis.


1
2.
3.
4.
5.
6
7.
8.
9.
10.



Centralblatt f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. XIV. No. 26.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XIV enthaltenen Arbeiten.

III. Verzeichnis der Abbildungen.

IV. Neue Literatur.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

